

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

PHARMAKOKINETIK UND METABOLISMUS VON ACETON BEI DER RATTE

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

dem Fachbereich Medizin vorgelegt von

Ernst Hallier
aus Offenbach

Mainz 1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

PHARMAKOKINETIK UND METABOLISMUS
VON ACETON BEI DER RATTE

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

dem Fachbereich Medizin vorgelegt von

Ernst Hallier
aus Offenbach

Mainz 1980



Die Prüfung wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. M. Bolt an der Fakultät für Ingenieurwissenschaften des Rheinisch-Westfälischen Instituts für Angewandte Wissenschaften durchgeführt.

Die Prüfung wurde am 15. Oktober 1980 in der Form einer mündlichen Prüfung durchgeführt. Die Prüfung wurde von Herrn Prof. Dr. H. M. Bolt geleitet.

Die Prüfung wurde von Herrn Prof. Dr. H. M. Bolt geleitet. Die Prüfung wurde von Herrn Prof. Dr. G. F. Kahl durchgeführt.

Die Prüfung wurde von Herrn Prof. Dr. H. M. Bolt geleitet. Die Prüfung wurde von Herrn Prof. Dr. G. F. Kahl durchgeführt.

Dekan	:	Professor Dr. H. Leithoff
1. Gutachter	:	Professor Dr. Dr. H.M. Bolt
2. Gutachter	:	Professor Dr. G.F. Kahl

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Oktober 1980

Die Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof.Dr.Dr. H.M. Bolt an der Abteilung für Toxikologie des Pharmakologischen Instituts der Universität Mainz durchgeführt.

Herrn Prof.Dr.Dr. Bolt danke ich für die Überlassung des Themas und für die freundliche Betreuung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Ebenfalls gebührt mein aufrichtiger Dank Herrn Dr. J.G. Filser für die Beratung und Unterstützung bei der Planung, Durchführung und Diskussion der Versuche.

Den Mitgliedern der Arbeitsgruppe in der Abteilung für Toxikologie danke ich für wertvolle Unterstützung und Diskussionen.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Abkürzungen	1
1. EINLEITUNG	3
1.1. Aufgabenstellung	5
2. MATERIAL UND METHODEN	6
2.1. Versuchstiere	6
2.2. Chemikalien	6
2.3. Exposition der Tiere	7
2.3.1. Exposition ohne Untersuchung der Stoffwechselprodukte	7
2.3.2. Expositionssystem mit Vorrichtung zur Entnahme von Stoffwechselprodukten	8
2.3.3. Sauerstoffversorgung im geschlossenen System	10
2.4. Dosierung der zu untersuchenden Substanzen in das Expositionssystem	11
2.4.1. Zugabe von Aceton als Flüssigkeit	11
2.4.2. Zugabe von Vinylidenfluorid als reines Gas	13
2.4.3. Zugabe von Aceton als Dampf-Luft-Gemisch	13
2.5. Gaschromatographische Analyse	15
2.6. Quantitative Bestimmung der Ameisensäure im Harn	16

2.6.1.	Isolierung der Ameisensäure aus dem Harn	16
2.6.2.	Vorbereitung der Reagenzien zur Reduktion der Ameisensäure	18
2.6.3.	Reduktion der Ameisensäure und photometrische Bestimmung des gebildeten Formaldehyds	19
2.6.4.	Erstellung der Eichkurve	19
2.7.	Reproduzierbarkeit der Messungen	21
2.8.	Pharmakokinetische Analyse	23
2.9.	Einfluß von Atemkalk auf die Acetonverteilung im System	24
3.	ERGEBNISSE	27
3.1.	Pharmakokinetik von Aceton bei der Ratte	27
3.1.1.	Verteilungsverhalten von Aceton	28
3.1.1.1.	Theoretische Grundlagen	28
3.1.1.2.	Acetonverteilung zwischen Tier und Luft	30
3.1.1.3.	Ostwaldscher Absorptionskoeffizient für Aceton in Wasser/Luft und in Öl/Luft	31
3.1.1.4.	Verteilung von Aceton zwischen Blut und Luft sowie zwischen Urin und Luft in vitro	32
3.1.2.	Kinetik des Metabolismus von Aceton	33
3.1.2.1.	Theoretische Grundlagen	33
3.1.2.2.	Metabolische Elimination von Aceton	36
3.1.3.	Kinetik der Acetonaufnahme und der Acetonabatemung	41
3.1.3.1.	Theoretische Grundlagen	41

3.1.3.2.	Kinetik der Acetonaufnahme in den Organismus bis zur Gleichgewichtseinstellung	45
3.1.3.3.	Kinetik der Acetonabatmung	51
3.1.3.4.	Abatmung von Aceton nach oraler Applikation	54
3.2.	Ausscheidung von Ameisensäure als Metabolit von Aceton	58
3.3.	Bildung von Aceton unter Einwirkung von Vinylidenfluorid auf den Organismus der Ratte	60
3.3.1.	Acetonproduktion und Metabolismus	60
3.3.2.	Bestimmung der maximalen Bildungsgeschwindigkeit für Aceton unter Exposition gegen Vinylidenfluorid	63
4.	DISKUSSION	67
4.1.	Versuchsanordnung, Pharmakokinetisches Modell	67
4.2.	Aufnahme, Verteilung und Abatmung von Aceton	69
4.3.	Biochemische Aspekte	71
4.4.	Die Haloäthylen-induzierte Acetonämie	74
4.5.	Folgerungen für den Menschen	75
5.	ZUSAMMENFASSUNG	78
6.	LITERATURVERZEICHNIS	81

Abkürzungen

a	Proportionalitätsfaktor der Dimension cm/h
C_{Lo}	Anfangskonzentration eines Gases im Luftraum des Expositionssystems zur Zeit $t=0$ [ppm]
$C_{L\infty}$	Konzentration eines Gases im Luftraum des Expositionssystems zu einem Zeitpunkt nach Einstellung des Verteilungsgleichgewichts (bei vernachlässigtem Metabolismus); [ppm]
$C_L(t)$	Konzentration eines Gases im Luftraum des Expositionssystems zur Zeit t ; [ppm]
$C_{T\infty}$	Konzentration eines Gases im Organismus zu einem Zeitpunkt nach Einstellung des Verteilungsgleichgewichts (bei vernachlässigtem Metabolismus); ["ppm" = nI Gas/ml Gewebsvol.]
$C_T(t)$	Konzentration eines Gases im Tier zum Zeitpunkt t ; ["ppm" = nI Gas/ml Gewebsvolumen]
F	Proportionalitätsfaktor; Maß für die Vergrößerung des imaginären Verteilungsvolumens für Aceton außerhalb des Organismus durch den Atemkalk
G_T	Tiergewicht; [g]
k	Geschwindigkeitskonstante des Diffusionsprozesses eines Gases zur Einstellung des Verteilungsgleichgewichts; [1/h]
k_{12}	Geschwindigkeitskonstante des Partialprozesses der Diffusion eines Gases in den Organismus; [1/h]
k_{21}	Geschwindigkeitskonstante des Partialprozesses der Diffusion eines Gases aus dem Organismus in die Atmosphäre; [1/h]
K_{G1}	"Gleichgewichtskonstante"; "Verteilungskonstante" des Konzentrationsgleichgewichts zwischen Gasraum und Organismus
K_m	Konzentration des Substrats bei halbmaximaler Umsatzgeschwindigkeit (Michaeliskonstante)

M	Gesamtmenge Aceton im Expositionssystem; [μmol]
$M_L(t)$	Acetonmenge im Luftraum des Expositionssystems zur Zeit t; [μmol]
$M_{\text{Met}}(t)$	bis zum Zeitpunkt t metabolisierte Acetonmenge; [μmol]
$M_{T\infty}$	Acetonmenge im Organismus zu einem Zeitpunkt nach Einstellung des Verteilungsgleichgewichts (bei vernachlässigtem Metabolismus)
$M_T(t)$	zum Zeitpunkt t in den Tieren befindliche Acetonmenge
MAK	maximale Arbeitsplatzkonzentration
ppm	"parts per million"; technische Maßeinheit für Gaskonzentrationen
r	Korrelationskoeffizient
V'	Molvolumen eines idealen Gases bei 25°C ; [ml]
V'_{f1}	Molvolumen einer Flüssigkeit; [ml]
V_{f1}	Volumen einer Flüssigkeit; [ml]
V_i	imaginäres Verteilungsvolumen; [ml]
V_L	Volumen des Luftraums im Expositionsgefäß; [ml]
V_T	Volumen der Tiere; [ml]
$v(t)$	Geschwindigkeit der metabolischen Elimination eines Fremdstoffes zur Zeit t; [$\mu\text{mol}/\text{h}\cdot\text{kg}$]
$v'(t)$	Geschwindigkeit der metabolischen Elimination einer Substanz aus dem Luftraum des Expositionssystems zur Zeit t; [$\mu\text{mol}/\text{h}$]
v_{max}	maximale Geschwindigkeit der metabolischen Elimination eines Fremdstoffes; [$\mu\text{mol}/\text{h}\cdot\text{kg}$]
v'_{max}	maximale Geschwindigkeit der Acetonbildung in vivo unter Einwirkung von Vinylidenfluorid [$\mu\text{mol}/\text{h}\cdot\text{kg}$]
VF_2	Vinylidenfluorid (1,1-Difluoräthylen)

1. EINLEITUNG

Aceton wird als Lösungsmittel in weiten industriellen Bereichen verwendet. Seine breite Anwendung wird dadurch begünstigt, daß toxische Effekte erst bei ausgesprochen hohen Konzentrationen auftreten. Der für den Bereich der Arbeitsmedizin gültige MAK-Wert wurde auf 1000 ppm festgelegt (Deutsche Forschungsgemeinschaft, 1980). Dieser Arbeitsplatz-Grenzwert orientiert sich am Auftreten narkotischer Effekte bei Einwirkung hoher Acetonkonzentrationen. Über chronisch toxische Wirkungen von Aceton ist demgegenüber sehr wenig bekannt (Baumann u. Angerer, 1979a).

In der Arbeitsmedizinischen Toxikologie wird zur Zeit zusätzlich versucht, Grenzwerte von Arbeitsstoffen oder deren Metabolite im biologischen Material im Sinne des sogenannten "biological monitoring" festzulegen. Als Grundlage für die Festlegung entsprechender Grenzwerte für Aceton-exponierte Beschäftigte wurden vom Arbeitskreis um Lehnert (Angerer, 1976; Baumann u. Angerer, 1979 a&b) arbeitsmedizinisch orientierte Untersuchungen zum biologischen Verhalten von Aceton beim Menschen durchgeführt. Es fehlt jedoch bisher eine detaillierte Kenntnis der Pharmakokinetik dieses Lösungsmittels, die mit eine wesentliche Grundlage für die Aufstellung von Grenzwerten im Sinne des "biological monitoring" ist. Die grundlegenden Prinzipien der Pharmakokinetik wären zunächst im Tierexperiment zu erarbeiten, um so die Möglichkeit zu schaffen, in weniger aufwendig anzulegenden Untersuchungen die fehlenden kinetischen Daten beim Menschen zu gewinnen. Das Ziel der vorliegenden Arbeit besteht darin, diese grundlegenden tierexperimentellen Daten vorzulegen. Hierbei konnte teilweise auf frühere Untersuchungen über das Verhalten von Aceton im tierischen und menschlichen Organismus (Widmark, 1920;

Briggs u. Shaffer, 1921; Price u. Rittenberg, 1950) zurückgegriffen werden, wobei jedoch in diesen älteren Arbeiten noch keine durchgreifende Analyse mit den modernen pharmakokinetischen Methoden möglich war. In der Anlage der pharmakokinetischen Modelle schließt sich die vorliegende Arbeit möglichst eng an das von Filser für eine Reihe halogenierter Äthylene beschriebene System (Filser, 1979; Filser u. Bolt, 1979) an, wobei einige Modifikationen wegen des sehr andersartigen physikalischen Verhaltens von Aceton notwendig wurden.

Ein weiterer Aspekt zur Anwendung pharmakokinetischer Daten von Aceton ergibt sich aus neuesten Befunden, daß eine Reihe von Fremdstoffen, die im Organismus zur Bildung von reaktiven Metaboliten führen, eine sehr stark vermehrte Produktion von Aceton hervorrufen (Filser u. Bolt, 1980). Der initiale biochemische Mechanismus dürfte dabei eine Alkylierung von cytosolischem Coenzym A durch reaktive Metabolite sein (Bolt et al., 1980). Eine Anwendung dieses Phänomens für die Beurteilung von Chemikalien im Hinblick auf eine mögliche Bildung reaktiver Metabolite setzt wiederum eine intime Kenntnis des pharmakokinetischen Verhaltens von Aceton voraus. Aus diesem Grunde werden zum Schluß der vorliegenden Arbeit Experimente beschrieben, die diese Anwendungsmöglichkeit kinetischer Daten über Aceton modellhaft umreißen.

1.1. Aufgabenstellung

Zusammenfassend soll die vorliegende Arbeit die folgenden Aufgaben lösen:

- a) Tierexperimentelle Bestimmung der pharmakokinetischen Grundlagen für Aufnahme, Verteilung, Stoffwechselverhalten und Metabolitenausscheidung von Aceton einschließlich Erarbeitung eines Modellsystems;
- b) Anwendung dieser Modellvorstellungen auf das Problem der Acetonentstehung unter Belastung von Tieren mit der Modells substanz Vinylidenfluorid.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Versuchstiere

Männliche Wistar-Ratten (Körpergewicht 180-250g) von der Versuchstier-Zuchtanstalt Ivanovas, Kisslegg, Allgäu.

2.2. Chemikalien

Aceton	E.Merck AG, Darmstadt
Ameisensäure (98-100%)	E.Merck AG, Darmstadt
Atemkalk Sodasorb ^R	ICI Pharma Arzneimittelwerk, Plankstadt
Chromotropsäure Dinatriumsalz (Dihydrat)	E.Merck AG, Darmstadt
Heparin-Natrium (168200 IE/g)	Serva, Heidelberg
Magnesium Band (3mm breit)	E.Merck AG, Darmstadt
Methanol	E.Merck AG, Darmstadt
Oliveöl	Apotheke d. Univ.Klinik, Mainz
Salzsäure (min 37%)	E.Merck AG, Darmstadt
Schwefelsäure (95-97%)	E.Merck AG, Darmstadt
Tenax GC (35-60 mesh)	Applied Science Laboratories, State College, Pa., USA
Trockeneis	Südmilch AG, Mainz-Mombach
Gase:	
Sauerstoff	Linde AG, Mainz-Kostheim
Stickstoff	Linde AG, Mainz-Kostheim

synthet. Luft

Linde AG, Mainz-Kostheim

Vinylidenfluorid

Dynamit Nobel AG, Troisdorf

2.3. Exposition der Tiere

2.3.1. Exposition ohne Untersuchung der Stoffwechselprodukte

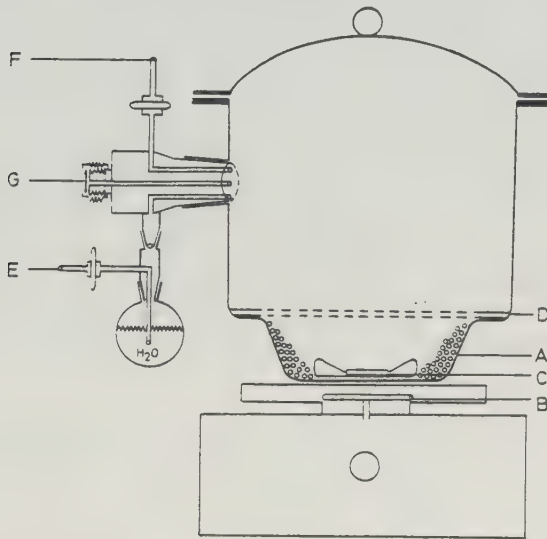


Abb. 1: gläsernes Expositionssystem
(A) Atemkalk, (B) Magnetrührer, (C) Rührmagnet,
(D) Drahtgitter, (E) Sauerstoffeinlaß, (F) Gas-
einlaß, (G) mit Teflon beschichtetes Gummi-
septum

Die Exposition von Ratten gegen Aceton sowie gegen Vinylidenfluorid zum Zwecke der pharmakokinetischen Analyse erfolgte in entsprechend eingerichteten Exsikkatoren (siehe 2.3.2.). Für die Versuche, bei denen keine Stoffwechselprodukte untersucht wurden, wurde das von Bolt et al. (1976) beschriebene System unverändert verwendet (Abb.1).

Das Volumen der Exsikkatoren betrug jeweils 6,38 Liter. Der Boden der gläsernen Gefäße wurde mit Atemkalk (A) bedeckt. Mit Hilfe eines Magnetrührers (B), der einen in einem kleinen Glaspropeller liegenden Rührmagneten (C) antrieb, wurde die Luft im Expositionssystem umgewälzt. Als Boden für die Tiere diente ein Drahtgitter (D). Hinter dem Einlaß für den Sauerstoff (E) war eine kleine, mit Wasser gefüllte Waschflasche angebracht. Durch ein mit Teflon beschichtetes Septum (G) konnte mittels einer Einmalspritze, die mit einer 20 cm langen Kanüle versehen war, die zu untersuchende Substanz in den Exsikkator eingebracht werden. Die Kanüle ragte hierbei weit in das System hinein. Auf diese Weise konnten Luftproben aus dem Exsikkator zur gaschromatographischen und kinetischen Analyse entnommen werden.

2.3.2. Expositionssystem mit Vorrichtung zur Entnahme von Stoffwechselprodukten

Für die Versuche, bei denen der Harn der Tiere untersucht wurde, wurde die folgende Apparatur entwickelt (Abb.2):

Als Expositionssystem diente ein umgebauter gläserner Exsikkator mit einem Volumen von 4,58 Liter. Der Atemkalk (A) befand sich auf einem engmaschigen Drahtgitter am oberen Ende des Gefäßes. Dieses Gitter wurde durch vier herausnehmbare, mit Schliff versehene, Glasstifte in Position gehalten. Durch ein mit Teflon beschichte-

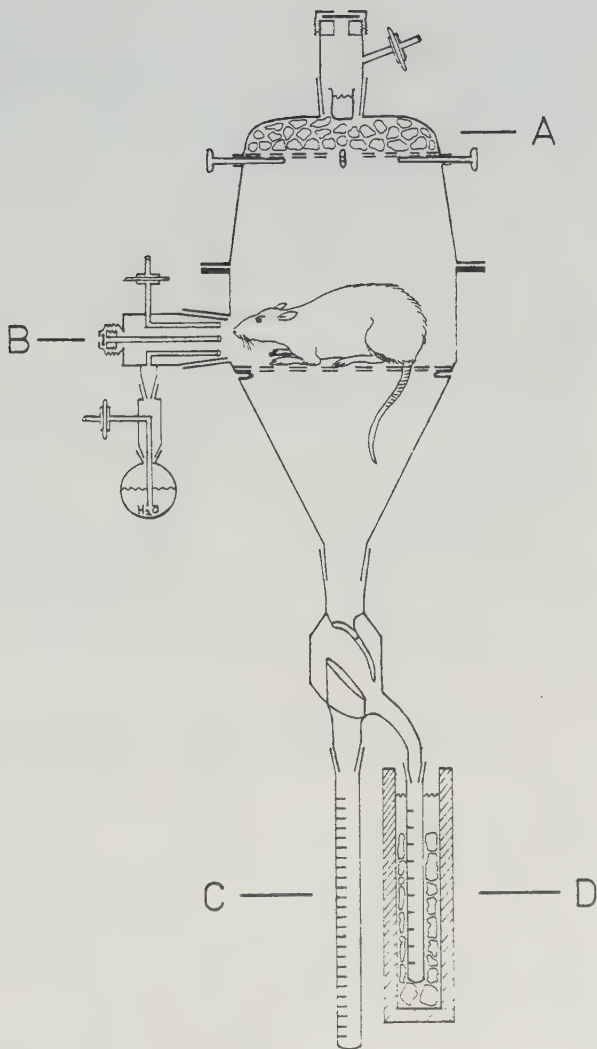


Abb. 2: Expositionssystem mit Vorrichtung zur Entnahme von Stoffwechselprodukten
Erklärung s. Text

tes Septum wurde mittels einer Spritze mit einer langen Kanüle die jeweils entnommene Urinmenge durch die gleiche Menge Wasser ersetzt, wobei dieses in ein kleines, auf dem Atemkalk befindliches, Becherglas gegeben wurde und von dort verdunsten konnte. Hierdurch blieb die Flüssigkeitsmenge im geschlossenen System stets konstant. Für den Einlaß von Sauerstoff und Aceton, sowie zur Entnahme von Luftproben, wurde das in 2.3.1. beschriebene System (B) verwendet. Die Ratten befanden sich auf einem Drahtgitter, das für Kot und Urin durchlässig war. Am unteren Ende des Systems befand sich eine Trennvorrichtung, die ein Auffangen von Kot (C) und Urin (D) in getrennten Behältern ermöglichte. Das Sammelröhrchen für Urin befand sich in einem mit Methanol und Trockeneis gefüllten Dewar-Gefäß. Durch sofortiges Einfrieren des Harns wurde hierbei eine Rückdiffusion von gelöstem Aceton in das Expositionssystem verhindert. Die mit Urin gefüllten Schliffröhrchen wurden periodisch zur Untersuchung der Proben gewechselt.

2.3.3. Sauerstoffversorgung im geschlossenen System

Zur Versorgung der Versuchstiere mit Sauerstoff wurde das von Link (1979) beschriebene System verwendet (Abb.3). Der von den Ratten verbrauchte Sauerstoff wurde aus einer Druckflasche, gekoppelt mit einer Waschflasche als "Druckventil", über den Sauerstoffeinlaß des Exsikkators drucklos nachgeliefert.

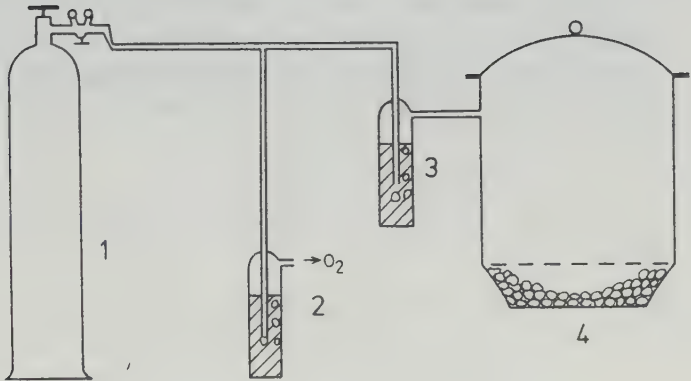


Abb. 3: Drucklose Sauerstoffversorgung
(1) Sauerstoffdruckflasche, (2) Waschflasche
mit 1 cm Eintauchtiefe als Überdruckventil,
(3) Waschflasche mit 1 cm Eintauchtiefe, (4)
Exsikkator mit Atemkalk

2.4. Dosierung der zu untersuchenden Substanzen in das Expositionssystem

2.4.1. Zugabe von Aceton als Flüssigkeit

Für die Exposition der Versuchstiere gegen hohe Konzentrationen von Aceton wurde diese Substanz als Flüssigkeit in den Exsikkator gegeben, wo sie sofort verdampfte. Die Applikation der Substanz erfolgte, indem sie mit einer Hamilton-Spritze mit aufgesetzter 20 cm langer Kanüle dem Vorratsgefäß entnommen und durch das Septum in den Exsikkator injiziert wurde.

Die Berechnung der Acetonmenge, die nach dem Verdampfen

eine bestimmte Konzentration im System ergeben sollte, geschah wie folgt:

Nach dem Boyle-Mariotteschen Gesetz für ideale Gase gilt:

$$p \cdot V = R \cdot T$$

Für V in ml und für p in Torr erhält man:

$$R = \frac{62,367 \cdot 10^3 \text{ ml} \cdot \text{Torr}}{\text{K} \cdot \text{Mol}}$$

V bei 0°C und 760 Torr ist: $22,415 \cdot 10^3 \text{ ml}$ (D'Ans-Lax, 1967).

Das Molvolumen eines idealen Gases läßt sich nun für den mittleren atmosphärischen Luftdruck in Mainz und eine Temperatur im Expositionssystem von 25°C errechnen zu:

$$V' = 25,13 \cdot 10^3 \text{ ml}$$

$V' =$ Molvolumen eines idealen Gases bei 25°C

Für Flüssigkeiten gilt:

$$V'_{f1} = \frac{Mg}{D}$$

Mg = Molekulargewicht in g

D = Dichte in g/ml

V'_{f1} = Molvolumen der Flüssigkeit in ml

Da Aceton ein Molekulargewicht von 58,08 und eine Dichte von 0,79 g/ml besitzt, ließ sich berechnen:

$$V'_{f1} = 73,52 \text{ ml}$$

Unter der Annahme, daß sich Aceton nach dem Verdampfen wie ein ideales Gas verhält, und daß somit V'_{fl} ein Volumen von V' ausfüllt, ließ sich das zur Herstellung einer bestimmten Gaskonzentration im Luftraum des Expositionssystems benötigte Flüssigkeitsvolumen wie folgt berechnen:

$$V_{fl} = \frac{V'_{fl} \cdot V_L}{V' \cdot 10^6} \cdot x$$

x = gewünschte Gaskonzentration in ppm

V_{fl} = benötigte Flüssigkeitsmenge in ml

V_L = Gesamtvolumen im Expositionsgefäß

2.4.2. Zugabe von Vinylidenfluorid als reines Gas

Vinylidenfluorid wurde dem Expositionssystem als Gas zugegeben. Im Abzug wurde mit Hilfe eines am Reduzierventil angebrachten Silikonschlauches das Gas direkt aus einer Gasflasche in eine Einmalspritze geleitet, und dann dem System durch das Teflonseptum zugegeben.

2.4.3. Zugabe von Aceton als Dampf-Luft-Gemisch

Wenn sehr geringe Konzentrationen von Aceton im Expositionssystem benötigt wurden, erfolgte die Zugabe der Substanz als Dampf-Luft-Gemisch. Die Vorratsflasche wurde bei Raumtemperatur im Abzug geöffnet, und mit einer Einmalspritze wurde knapp über der Flüssigkeitsoberfläche ein Dampf-Luft-Gemisch entnommen. Dieses wurde dann sofort in das Expositionssystem injiziert. Die für eine bestimmte Anfangskonzentration benötigte Menge wurde mit Hilfe des Dampfdruck-Temperatur-Dia-

gramms für Aceton (Abb.4) ermittelt (siehe D'Ans-Lax, 1967).

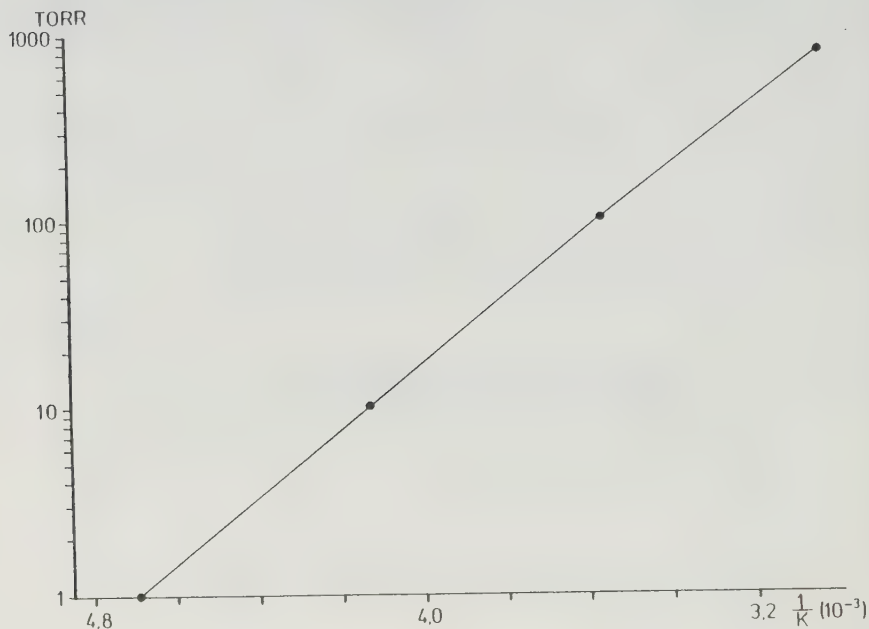


Abb. 4: Dampfdruck-Temperatur-Diagramm von Aceton
Die Punkte stellen die aus D'Ans-Lax (1967) erhaltenen Werte dar. Der Dampfdruck von Aceton bei 25°C wurde aus der Kurve abgelesen.

Hieraus konnte der Partialdruck bei 25°C abgelesen werden. Die benötigte Menge Dampf-Luft-Gemisch wurde wie folgt berechnet, wobei für Mainz ein durchschnittlicher atmosphärischer Luftdruck von 750 Torr zu Grunde gelegt wurde:

Nach dem Boyle-Mariotteschen Gesetz gilt:

$$V_{\text{Aceton}} = \frac{P_{\text{Mainz}}}{P_{\text{Aceton}}} \cdot V_L$$

woraus folgt:

$$V_{\text{Gasgemisch}} = \frac{P_{\text{Mainz}} \cdot V_L}{P_{\text{Aceton}} \cdot 10^6} \cdot x$$

V_L = Gasraum des Expositionsgefäßes

V_{Aceton} = Gasvolumen, welches einer Million ppm Aceton bei dem Partialdruck p_{Aceton} entspricht

$V_{\text{Gasgemisch}}$ = das mit der Spritze über der Flüssigkeitsoberfläche zu entnehmende Gasvolumen

P_{Mainz} = mittlerer atmosphärischer Luftdruck in Mainz

P_{Aceton} = Partialdruck von Aceton bei 25°C

x = die gesuchte Anfangskonzentration in ppm

2.5. Gaschromatographische Analyse

Zur Analyse der Luft im Expositionssystem diente ein Gaschromatograph vom Typ Varian Aerograph 1200. Die dem Exsikkator mittels einer 10 ml- Einmalspritze entnommenen Gasproben wurden über ein Gasprobenventil mit einer Dosierschleife von 5 ml in das Gerät eingegeben. Die Schleife war mit einer 3 m langen Säule von 1/8 Zoll Durchmesser aus rostfreiem Stahl verbunden, welche mit Tenax GC (35-60 mesh) beladen war. Die Säulentemperatur wurde meist bei 130°C, bei manchen Versuchen bei 110°C, konstant gehalten. Die Temperatur des Flammenionisationsdetektors betrug 240°C. Die Gasdurchflußraten waren: Stickstoff 60 ml/min., Wasser-

stoff 30 ml/min., synthetische Luft 300 ml/min. Die Retentionszeiten für Aceton betrugen 1,3 min. bei 130°C und 1,5 min. bei 110°C.

2.6. Quantitative Bestimmung der Ameisensäure im Harn

Ein bekannter Metabolit von Aceton im Urin ist Ameisensäure (Sakami, 1950). Um die ausgeschiedene Ameisensäure im Harn der Versuchstiere quantitativ zu erfassen, wurde das Verfahren nach Rietbrock u. Hinrichs (1964) angewandt. Hierbei erfolgte zunächst die Isolierung der Ameisensäure aus dem Harn mittels Wasserdampfdestillation. Anschließend wurde die Ameisensäure zu Formaldehyd reduziert und mit Chromotropsäure in der beschriebenen Farbreaktion bestimmt.

2.6.1. Isolierung der Ameisensäure aus dem Harn

Die Isolierung der Ameisensäure aus dem Harn der Versuchstiere vor ihrer quantitativen Bestimmung erfolgte durch Wasserdampfdestillation in einer Ganzglasapparatur nach Klingmüller et al. (1955) (Abb.5).

Zuerst wurde mit Hilfe des in Abb.2 dargestellten Systems der Urin der Versuchstiere aufgefangen und sofort eingefroren. Nach dem Auftauen im geschlossenen Schliffröhrchen wurde 1 ml Urin mit 100 µl Aqua bidest. versetzt. Dann wurde der Urin mit 25% Salzsäure auf pH 2 eingestellt. Bei pH 2 ist laut Rietbrock u. Hinrichs (1964) die Ausbeute an Ameisensäure optimal und beträgt 94-97%. Pro Urinprobe von 1,1 ml wurden in der Regel 15 µl 25% HCl benötigt, um diesen pH einzustellen. Die Messung des pH geschah mit Hilfe einer Glaselektrode.

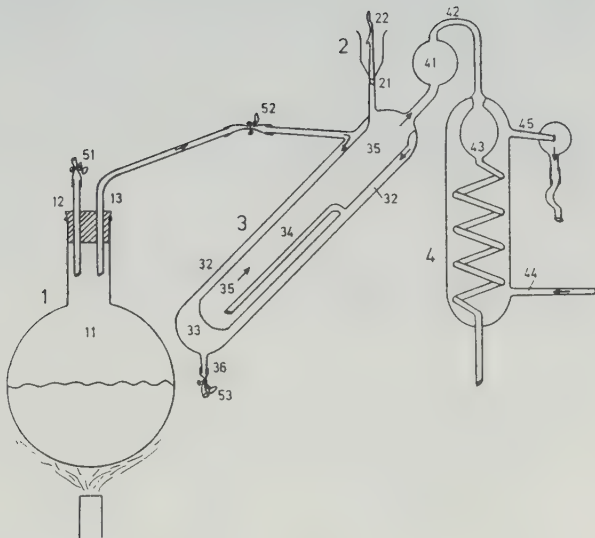


Abb. 5: Apparat zur Wasserdampfdestillation

- | | |
|---------------------------------|---------------------------|
| 1 Dampfentwickler | 35 Destillationskolben |
| 11 2l Langhansrundkolben | 36 Ablauf |
| 12 Einfüll- u. Dampfableßrohr | 4 Kühler |
| 13 Dampfüberleitungsrohr | 41 Expansionsblase |
| 2 Einfülltrichter | 42 Destillationsbrücke |
| 21 Kalibrierter Trichter | 43 Kühlrohr |
| 22 Glasstift | 44,45 Kühlwasserzulauf |
| 3 Destillationsapparat | 51,52,53 Quetschhähne |
| 31 Dampfzuführung | |
| 32 Mantelraum | |
| 33 Sentina | |
| 34 Dampfeinleitung | |

Die Proben wurden einzeln in den Einfülltrichter (2 in Abb.5) gegeben, von wo sie in den Destillationskolben (35) flossen. Der durch Erhitzen von Aqua bidest. im Dampfentwickler (1) erhaltene Wasserdampf nahm nun die Ameisensäure aus der Urinprobe mit; das im Kühlersystem (4) kondensierende Destillat wurde mit einem Meßzylinder aufgefangen. Eine Erweiterung der Destillationsbrück-

ke zu einer Blase (41) war notwendig, um einen Übertritt des mitunter stark schäumenden Urins in das Kühlsystem zu verhindern. Bei der Destillation jeder Urinprobe wurden genau 15 ml Destillat aufgefangen. Vor Eingabe der nächsten Probe wurde die Apparatur jeweils gründlich mit Aqua bidest. durchspült.

2.6.2. Vorbereitung der Reagenzien zur Reduktion der Ameisensäure

- a) 600 mg Magnesiumband wurden in vier gleich große Spiralen gewickelt und unmittelbar vor der Reduktion mittels eines doppelt gebogenen Glasstabes kurz in 25% Salzsäure getaucht. Diese Reinigung von anhaftenden Karbonatschichten war notwendig, da sonst das in salzsaurem Milieu entstehende CO_2 zu Formaldehyd mitreduziert worden wäre.
- b) Die 25% Salzsäure wurde erhalten, indem 50 ml 37% HCl mit 24 ml Aqua bidest. versetzt wurden.
- c) Durch Verdünnen von 81 ml 96% Schwefelsäure mit 15 ml Aqua bidest. wurden 96 ml 81% H_2SO_4 erhalten.
- d) Zur Herstellung der Chromotropsäurelösung wurden in einem 100 ml- Meßkolben 250mg kristalline Substanz in 20 ml Aqua bidest. gelöst und mit 81% Schwefelsäure bis zur Marke aufgefüllt. Die Lösung wurde dunkel aufbewahrt und jeden Tag erneuert.

2.6.3. Reduktion der Ameisensäure und photometrische Bestimmung des gebildeten Formaldehyds

Von den 15 ml Destillat, die bei jedem Destillationsvorgang erhalten wurden, wurden 10 ml in ein 25 ml Erlenmeyerkölbchen gegeben und mit vier kurz vorher gereinigten Magnesiumspiralen versetzt. Durch fraktionierte Zugabe der 25% Salzsäure bei Kühlung im Eisbad entwickelte sich langsam naszierender Wasserstoff. Es wurden 7,5 ml HCl in 30 Portionen zu 0,25 ml in Minutenabständen zu jeder Probe pipettiert. Nach jeweils 10 x 0,25 ml wurde der Reduktionsvorgang für 6 Minuten unterbrochen. Nach Beendigung des Pipettiervorgangs wurden die Erlenmeyerkölbchen aus dem Eisbad entfernt und die völlige Lösung der Magnesiumreste bei Zimmertemperatur abgewartet.

Der bei der Reduktion entstehende Formaldehyd wurde mittels Chromotropsäure quantitativ bestimmt. 4 ml der reduzierten salzsauren Lösung wurden mit 1 ml 0,25% Chromotropsäure und 5 ml 81% Schwefelsäure versetzt. Nach Durchmischen mit einem Glasstab wurde die Probe 45 min. in einem kochenden Wasserbad erhitzt, wobei die Salzsäure durch die 81% Schwefelsäure ausgetrieben wurde. Anschließend wurde die Probe unter fließendem Wasser bis auf Zimmertemperatur abgekühlt und im Photometer "Eppendorf 1101 M" nach Vorschalten des Filters Hg 578 gemessen.

2.6.4. Erstellung der Eichkurve

2,06 ml einer 98-100%igen Ameisensäure wurden mit Aqua bidest. auf 500 ml aufgefüllt. Die so erhaltene Lösung mit einer Ameisensäure-Konzentration von 0,109 M oder 5 mg pro ml wurde als Stammlösung verwendet. Durch Ver-

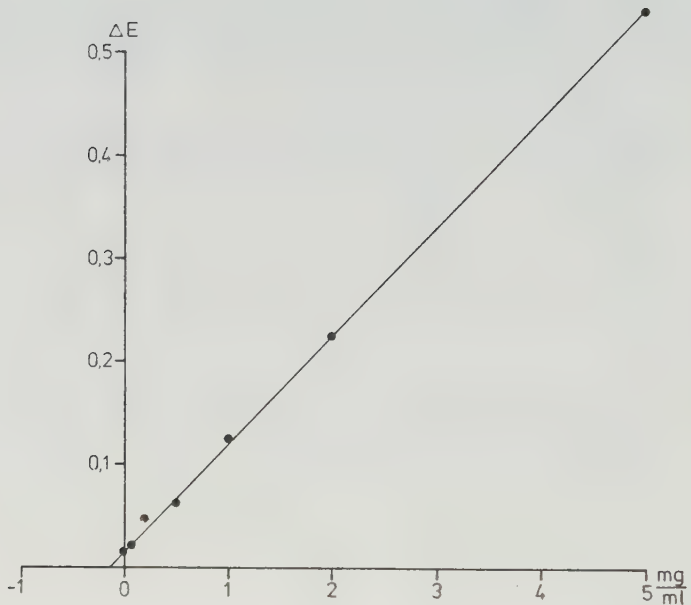


Abb. 6: Eichkurve für die Bestimmung der Ameisensäure im Harn. Abszisse: Ameisensäurekonzentration der Urinprobe. Ordinate: Extinktionsdifferenz gegen Aqua bidest. Durch Extrapolation der erhaltenen Geraden auf den Schnittpunkt mit der Abszisse konnte der Ameisensäuregehalt des Kontrollurins bestimmt werden (s. Text)

dünnung mit Aqua bidest. wurden Lösungen mit 0,01 bis 5 mg HCOOH pro ml Lösung erhalten. Zur Aufstellung einer Eichkurve wurden nun 0,1 ml der jeweiligen Ameisensäurelösung zu 1 ml 24-Stunden-Urin von unbehandelten Ratten gegeben und dem Destillations- und Reduktionsvorgang unterworfen. Der Harnleerwert wurde durch Zusatz von Aqua bidest. anstatt einer Ameisensäurelösung erhalten. Außerdem wurde eine Probe, welche nur Aqua bidest. enthielt, der Prozedur unterworfen. Die Extink-

tion wurde jeweils gegen Aqua bidest. gemessen, wobei sich die in Abb.6 gezeigte Eichkurve ergab. Da die Extinktionsdifferenz der Probe, welche nur Aqua bidest. enthielt gegenüber unbehandeltem Aqua bidest. 0 betrug, konnte die Eichkurve über die Ordinate hinaus nach links verlängert werden, und der Ameisensäuregehalt des Urins unbehandelter Ratten als Abszissenabschnitt zwischen 0 und dem Schnittpunkt mit der Eichkurve abgelesen werden. Somit enthielt der Harn der unbehandelten Tiere $143,5 \mu\text{g HCOOH pro ml}$. Der lineare Korrelationskoeffizient der Eichkurve war: $r = 0,9993$.

2.7. Reproduzierbarkeit der Messungen

In Anbetracht des großen Konzentrationsbereichs von Aceton, in dem Messungen vorgenommen wurden, wurde eine gaschromatographische Eichkurve angefertigt (Abb.7). Hierbei zeigte sich, daß das Elektrometersignal des mit dem Gaschromatographen gekoppelten Schreibers der Acetonkonzentration in der Luftprobe bis ca. 11000 ppm direkt proportional war. Sämtliche dieser Arbeit zu Grunde liegenden Messungen wurden bei Konzentrationen unterhalb von 11000 ppm durchgeführt. Zur Anfertigung dieser Eichkurve wurde Aceton sowohl als Dampf-Luftgemisch als auch in flüssiger Form in einen leeren Exsikkator gegeben; hierbei zeigte sich keine Divergenz der Meßwerte nach den beiden Applikationsformen in das Mischgefäß.

Bei allen Versuchen wurde neben dem Expositionssystem ein leerer Exsikkator aufgestellt und eine bestimmte Acetonmenge eingegeben, die einer Konzentration innerhalb des bei dem jeweiligen Versuch gemessenen Bereichs entsprach. Indem bei jeder Analyse der Luft im Expositionssystem eine Vergleichsmessung aus dem Kontroll-exsikkator durchgeführt wurde, konnten kleinere Fehler

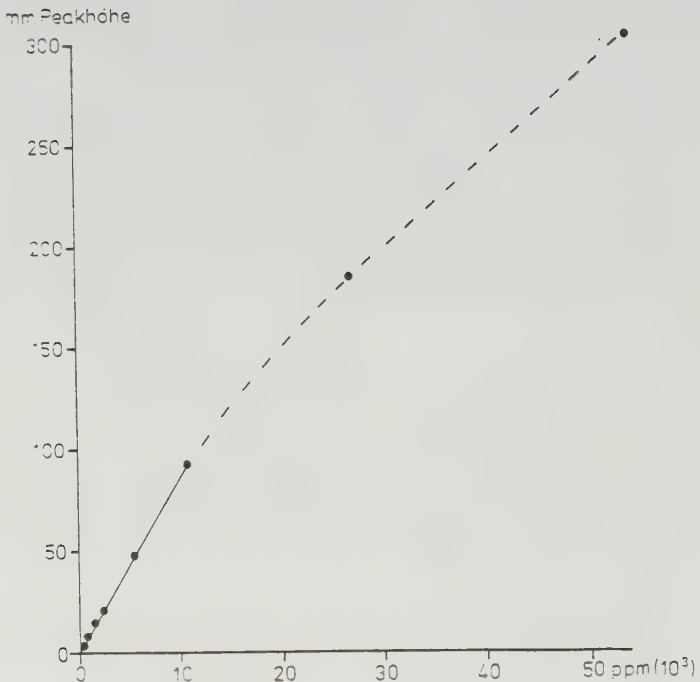


Abb. 7: Gaschromatographische Eichkurve
Dargestellt ist die Stärke des Elektrometer-
signals in Abhängigkeit von der Acetonkonzent-
ration in der Luftprobe. Bis ca. 1000 ppm
ist das Signal der Konzentration proportional.

durch Schwankungen in der Empfindlichkeit des Gaschromatographen (Temperaturschwankungen) ausgeschlossen werden.

Um Fehler durch individuelle Unterschiede bei den Versuchstieren soweit wie möglich auszugleichen, wurden jeweils zwei Tiere in einem Exsikkator exponiert und das Körpergewicht als Korrekturfaktor bei den Berechnungen berücksichtigt. Die Tiere wurden stets nur für einen Versuch verwendet. Bei einem Versuch wurden in

verschiedenen Exsikkatoren jeweils ein, zwei und drei Tiere exponiert, wobei sich zeigte, daß das Verhalten der auf das Körpergewicht bezogenen kinetischen Parameter von der Anzahl der verwendeten Tiere unabhängig war.

Bei der Dosierung des Aceton in das Expositionssystem betrug der Fehler maximal $\pm 10\%$. Eine Konzentrationsänderung durch Entweichen des Gases aus dem System konnte in keinem der bis zu 60 Stunden dauernden Versuche festgestellt werden. Jeder Versuch wurde mindestens zweimal unter identischen Bedingungen durchgeführt.

2.8. Pharmakokinetische Analyse

Durch Messung der Abnahme der Acetonkonzentration in der Luft des Expositionssystems konnten die Kinetik der Aufnahme der Substanz in das Tier bis zur Einstellung des Gleichgewichts zwischen Atmosphäre und Organismus sowie die Kinetik der metabolischen Eliminierung ermittelt werden. Die atmosphärische Konzentration wird hierbei im allgemeinen in der Maßeinheit ppm ("parts per million") angegeben.

Für die Berechnungen wurde das von Filser (1979) beschriebene pharmakokinetische Modell zu Grunde gelegt; die Anwendung desselben auf die Kinetik des Aceton wird bei der Beschreibung der einzelnen Versuche näher erläutert. Zur Durchführung der Berechnungen, insbesondere der statistischen Analysen, wurde ein programmierbarer Rechner (Texas Instruments TI 59 mit angeschlossenen Drucker) verwendet.

2.9. Einfluß von Atemkalk auf die Acetonverteilung im System

Bei jedem Versuch mit Exposition von Tieren wurde Atemkalk in den Exsikkator gegeben, um das abgeatmete Kohlendioxid zu absorbieren. Bei einem 55 Stunden dauernden Versuch, in dem Tiere gegen Vinylidenfluorid exponiert waren, wurden in Anbetracht der erheblichen Versuchsdauer 540 g Atemkalk mit 20 ml Leitungswasser in das System gegeben; bei allen anderen waren es lediglich 135 g Atemkalk ohne Wasserzugabe.

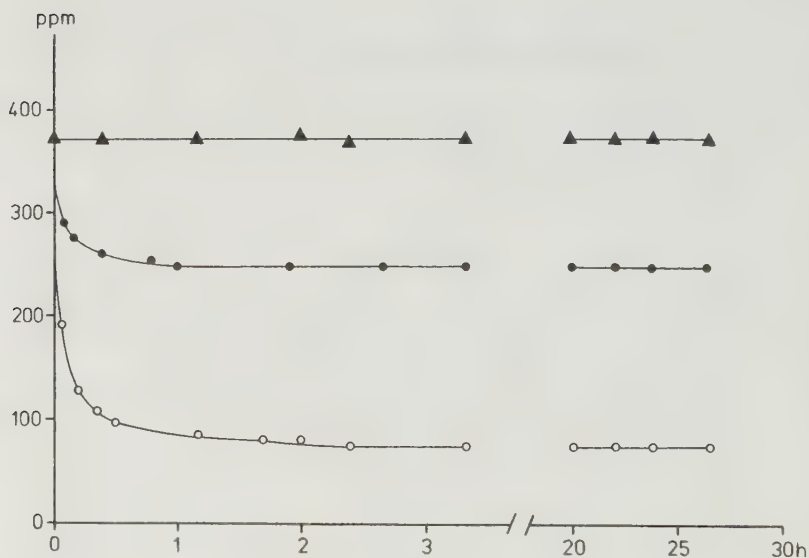


Abb. 8: Aufnahme von Aceton in den Atemkalk des Expositionssystems. Dreiecke: leerer Exsikkator; Punkte: Exsikkator mit 135 g Atemkalk; Kreise: Exsikkator mit 540 g Atemkalk und 20 ml Wasser. Die Acetonkonzentration (Ordinate) betrug zu Versuchsbeginn in allen Exsikkatoren 372 ppm.

Um festzustellen, ob die Anwesenheit von Atemkalk im Expositionssystem einen Einfluß auf die Acetonkonzentration in der Luft hat, wurde der folgende Versuch durchgeführt (Abb.8):

Neben leeren Exsikkatoren wurden Exsikkatoren mit 135 g Atemkalk und Exsikkatoren mit 540 g Atemkalk und 20 ml Leitungswasser aufgestellt. In die Exsikkatoren wurde eine bestimmte Menge Aceton gegeben, so daß in jedem zu Versuchsbeginn eine Acetonkonzentration in der Luft von 372 ppm herrschte. Es erfolgte nun innerhalb einer Stunde eine Abnahme der Acetonkonzentration in den Exsikkatoren mit 135 g Atemkalk auf 248 ppm und in den Exsikkatoren mit Atemkalk und Wasser auf 73 ppm. Diese Werte blieben konstant, wie sich durch weitere Messungen nach mehr als 24 Stunden feststellen ließ.

Für das Verhalten der Acetonkonzentration gilt nun: Zu Versuchsbeginn befindet sich die gesamte in das Expositionssystem gegebene Acetonmenge im Luftraum des Exsikkators, d.h.:

$$M = C_{Lo} \cdot V_L$$

M = Gesamtmenge Aceton im System

V_L = Luftvolumen

C_{Lo} = Acetonkonzentration in der Luft bei Versuchsbeginn ($t=0$)

Bei Anwesenheit von 135 g Atemkalk im 6380 ml fassenden Exsikkator fällt die Acetonkonzentration auf 2/3 der ursprünglichen Höhe ab. Es gilt also:

$$C_{Lo\infty} = \frac{2}{3} \cdot C_{Lo} \quad \text{bzw.}$$

$$\frac{C_{Lo}}{C_{Loo}} = F_{ex} = 1,5 \pm 0,03 \quad (n=8)$$

C_{Loo} = Acetonkonzentration in der Luft bei Versuchsende ($t = \infty$)

F = Proportionalitätsfaktor

Es ist 1/3 des im System vorhandenen Acetons von dem Atemkalk aufgenommen worden. Das virtuelle Verteilungsvolumen für Aceton hat sich um den Faktor 1,5 vergrößert; es ist um den Faktor 1,5 größer als das Luftvolumen des Exsikkators. Wenn sich 540 g Atemkalk und 20 ml Wasser im Exsikkator befinden, so gilt:

$$F = \frac{C_{Lo}}{C_{Loo}} = 5,0 \pm 0,2 \quad (n=3)$$

Dieser Faktor F bleibt nun nach Ablauf der ersten Stunde stets konstant; das heißt, daß jede Abnahme der in der Luft befindlichen Acetonmenge auch eine proportionale Verminderung des Acetons im Atemkalk bedeutet.

Bei den Berechnungen wurde berücksichtigt, daß der Atemkalk porös ist. Deshalb wurde die Wasserverdrängung des verwendeten Atemkalks ermittelt. Es zeigte sich, daß 135 g Atemkalk ein Volumen von 75 ml einnehmen.

3. ERGEBNISSE

3.1. Pharmakokinetik von Aceton bei der Ratte

Die kinetischen Parameter der Aufnahme von Aceton bis zur Einstellung des Gleichgewichts zwischen Atmosphäre und Organismus sowie der metabolischen Elimination der Substanz wurden bestimmt, indem die Veränderung der Acetonkonzentration im Luftraum des Expositionssystems verfolgt wurde. Trägt man die in der Luft gemessene Konzentration gegen die Zeit auf, so erhält man eine typische Meßkurve, wie sie in Abb.9 dargestellt ist.

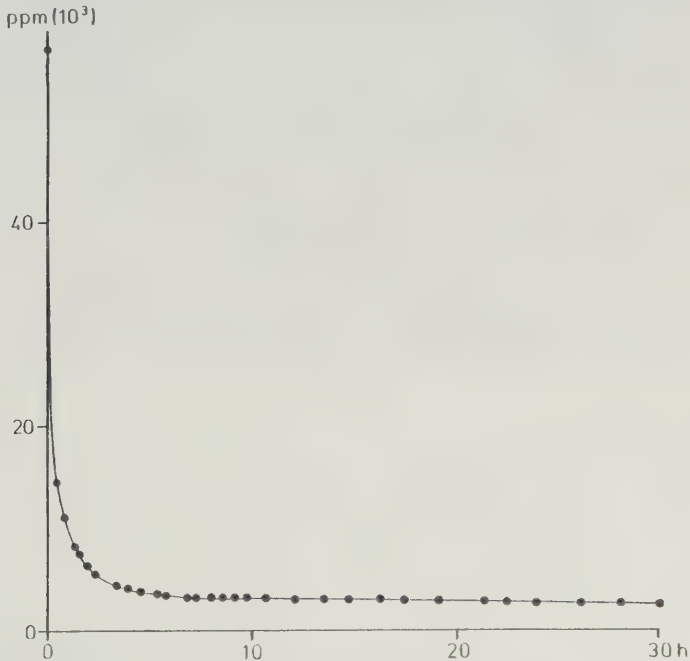


Abb. 9: Abnahme der Acetonkonzentration im Luftraum des Expositionssystems. Die Acetonkonzentration in der Luft bei Versuchsbeginn betrug 58000 ppm.

Nach der Applikation von Aceton in das mit zwei Versuchstieren belegte Expositionssystem kommt es zunächst zu einer raschen Konzentrationsabnahme der Substanz in der Luft. Nach ca. 8 Stunden ist diese Phase abgeschlossen, und die Konzentration nimmt nur noch vergleichsweise langsam ab. Die erste, rasche Abnahme der Konzentration ist Ausdruck der Aufnahme von Aceton in das Tier bis zur Einstellung des Verteilungsgleichgewichts. Der anschließende langsame Abfall ist durch den Metabolismus von Aceton bedingt. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß Metabolismus auch innerhalb der ersten acht Stunden abläuft, daß die hierdurch bedingte Konzentrationsänderung jedoch von dem wesentlich rascheren Verteilungsprozeß überlagert ist.

3.1.1. Verteilungsverhalten von Aceton

3.1.1.1. Theoretische Grundlagen

Zu Versuchsbeginn befindet sich die gesamte in das Expositionssystem gegebene Acetonmenge im Luftraum des Exsikkators, d.h.:

$$(1) \quad M = C_{Lo} \cdot V_L$$

M = Gesamtmenge Aceton im System

C_{Lo} = Acetonkonzentration in der Luft zu Versuchsbeginn
in ppm

V_L = Luftvolumen in ml

Wenn sich in dem Exsikkator Atemkalk, jedoch keine Tiere, befindet, ist das Verteilungsvolumen von Aceton um den Faktor F größer als das Luftvolumen (s. 2.9.):

$$(2) \quad M = C_{L\infty} \cdot F \cdot V_L$$

$C_{L\infty}$ = Acetonkonzentration in der Luft nach Abschluß der Verteilungsvorgänge

Befinden sich nun zusätzlich Ratten im System, so verteilt sich ein bestimmter Teil des Acetons auch im Organismus der Tiere. Nach Abschluß des Verteilungsvorgangs gilt:

$$(3) \quad M_{T\infty} = C_{L0} \cdot V_L - C_{L\infty} \cdot F \cdot V_L$$

$M_{T\infty}$ = Acetonmenge im Tier nach Verteilung

Somit ist die Acetonkonzentration im Tier (gemittelt über den Gesamtorganismus):

$$(4) \quad C_{T\infty} = (C_{L0} - F \cdot C_{L\infty}) \cdot \frac{V_L}{V_T}$$

V_T = Körpervolumen des Tieres

Das Verteilungsgleichgewicht zwischen Organismus und Luftraum ist:

$$(5) \quad K_{G1} = \frac{C_{T\infty}}{C_{L\infty}}$$

K_{G1} = Gleichgewichtskonstante

Durch Einsetzen von Gleichung (4) in (5) und anschließender Umformung erhält man:

$$(6) \quad K_{G1} = \left(\frac{C_{L0}}{C_{L\infty}} - F \right) \cdot \frac{V_L}{V_T}$$

3.1.1.2. Acetonverteilung zwischen Tier und Luft

Die Anwendung der in 3.1.1.1. erläuterten Prinzipien zur Berechnung der Acetonverteilung zwischen Tier und Luft läßt sich am Beispiel des in Abb.9 dargestellten Versuchs zeigen:

Die Versuchsbedingungen waren:

$$\begin{aligned}C_{Lo} &= 58000 \text{ ppm} \\V_L &= 5895 \text{ ml} \\V_T &= 410 \text{ ml}\end{aligned}$$

Der 6380 ml fassende Exsikkator enthielt 150 ml Atemkalk.

Der Einfachheit halber wurde für V_T (in ml) das Körpergewicht der Tiere in g eingesetzt und somit ein spezifisches Gewicht von 1 angenommen.

Nach 8,05 Stunden Expositionsdauer betrug die Acetonkonzentration in der Luft 3166 ppm und die Meßkurve ging in die zweite Phase der langsameren Konzentrationsabnahme über. Um zu ermitteln, welcher Anteil der Konzentrationsabnahme durch den Metabolismus von Aceton verursacht war, wurde an die Meßpunkte nach Ablauf von 8 Stunden, wo also nur noch der Metabolismus eine Rolle spielte, eine Gerade angepaßt (Berechnung der Ausgleichsgeraden) und der Schnittpunkt dieser Geraden mit der Ordinate ermittelt. Er lag bei 3470 ppm. Hätte kein Metabolismus stattgefunden, wäre also nach Abschluß des Verteilungsvorgangs eine Acetonkonzentration von 3470 ppm in der Luft des Expositionssystems. Durch Einsetzen dieses Wertes für $C_{L\infty}$ in die Gleichung (6) in 3.1.1.1. ließ sich errechnen:

$$K_{G1} = 218,7$$

Diese Methode wurde bei einer Reihe von Versuchen angewandt, wobei die Anfangskonzentrationen C_{Lo} zwischen 980 ppm und 58000 ppm lagen und " $C_{L\infty}$ " zwischen 72 ppm

und 3470 ppm betrug. Die statistische Auswertung der hierbei gefundenen K_{G1} ergab:

$$K_{G1} = 220 \pm 26 \quad (n=22)$$

3.1.1.3. Ostwaldscher Absorptionskoeffizient für Aceton in Wasser/Luft und in Öl/Luft

Als "Ostwaldscher Absorptionskoeffizient" wird das Konzentrationsverhältnis eines Gases zwischen einer definierten flüssigen Phase und der darüber liegenden Gasphase bezeichnet. Die Ermittlung desselben für Aceton in Wasser/Luft und in Öl/Luft geschah gaschromatographisch mittels "Overhead-Analyse" wie folgt:

- a) in 2 Exsikkatoren mit einem Volumen von je 6380 ml wurden jeweils 300 ml Aqua bidest. gegeben und Aceton in den Luftraum gebracht:

$$\begin{aligned} C_{Lo} &= 2412 \text{ ppm} \\ V_L &= 6080 \text{ ml} \end{aligned}$$

Die Exsikkatoren wurden in ein Wasserbad verbracht und die Temperatur konstant auf 37°C gehalten. Die Temperatur wurde mit Hilfe eines in den Exsikkator gestellten Thermometers kontrolliert. Durch Messung nach 24 und 48 Stunden wurde erhalten:

$$C_{L\infty} = 132 \text{ ppm} \quad (130 \text{ ppm})$$

Durch Einsetzen in die Gleichung

$$(1) \quad K_{G1} = \frac{V_L}{V_W} \cdot \frac{C_{Lo} - C_{L\infty}}{C_{L\infty}}$$

V_W = Volumen des Wassers (s.Gleichung 6 in 3.1.1.1.)

ergab sich:

$$K_{Gl} = 350 \quad (348)$$

Der Ostwaldsche Verteilungskoeffizient für Aceton zwischen Wasser und Luft bei 37°C beträgt somit ca. 350 .

b) Der gleiche Versuch wurde mit 50 ml Olivenöl durchgeführt:

$$\begin{aligned} C_{Lo} &= 2700 \text{ ppm} \\ V_L &= 6330 \text{ ml} \end{aligned}$$

Durch Messung nach 24 und 48 Stunden wurde erhalten:

$$C_{L\infty} = 1380 \text{ ppm} \quad (1350 \text{ ppm})$$

Der Ostwaldsche Verteilungskoeffizient für Aceton zwischen Olivenöl und Luft bei 37°C beträgt somit ca. 125 .

3.1.1.4. Verteilung von Aceton zwischen Blut und Luft sowie zwischen Urin und Luft in vitro

Das Verteilungsgleichgewicht für Aceton zwischen Blut und Luft sowie zwischen Urin und Luft wurde in vitro ebenfalls gaschromatographisch mittels "Overhead-Analyse" bestimmt. Der Versuch wurde folgendermaßen durchgeführt:

Zunächst wurden 0,1 g Heparin-Na in 10 ml Aqua bidest. gelöst. Von der Lösung wurden 0,1 ml in eine Einzelspritze gegeben und diese mit Rattenblut auf 2 ml gefüllt. Das Blut wurde durch Herzpunktion gewonnen. In eine zuvor mit "synthetischer Luft" gespülte 25 ml- Klarglas-Injektionsflasche wurden nun jeweils 0,2 ml des heparinisierten Blutes gegeben. Andere Gläser wurden mit je 0,2 ml 24-Stunden-Urin von Ratten beschickt. Mit Hilfe einer Spezialzange wurden die Flaschen mit Aluminiumkap-

pen (mit teflonkaschierter Scheibe) versehen und luftdicht verschlossen. Aus den Gläsern wurde mit einer Hamilton-Spritze durch das Septum je 1 ml Luft entnommen. Nun wurde in jedes Glas 1 ml Aceton-Luftgemisch gespritzt. Zum Vergleich dienten Gläser ohne Blut oder Urin, welche auf gleiche Weise behandelt wurden. Die Gläser wurden in ein 37°C warmes Wasserbad gestellt. Nach 8 Stunden wurde durch das Septum aus jedem Glas 5 ml Luft entnommen und gaschromatographisch untersucht. Durch Vergleich mit der Kontrolle und Einsetzen der Ergebnisse in die Formel (1) aus 3.1.1.3. ergab sich:

$$\begin{aligned} K_{GL} \text{ zwischen Blut und Luft in vitro bei } 37^{\circ}\text{C} \\ = 210 \pm 30 \quad (n=11) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} K_{GL} \text{ zwischen Urin und Luft in vitro bei } 37^{\circ}\text{C} \\ = 330 \pm 25 \quad (n=7) \end{aligned}$$

3.1.2. Kinetik des Metabolismus von Aceton

3.1.2.1. Theoretische Grundlagen

Die Geschwindigkeit der metabolischen Elimination von Aceton läßt sich an Hand einer Meßkurve, wie sie in Abb.9 dargestellt ist, berechnen. Dazu wird der Kurvenabschnitt nach Abschluß der initialen Gleichgewichtseinstellung verwendet, und die Konzentrationsänderung nach der Zeit differenziert. Folgt der Metabolismus einer Kinetik nullter Ordnung, so ist die Konzentrationsabnahme konstant:

$$\frac{\Delta C_L}{\Delta t} = \text{konstant}$$

Rechnet man nun die "ppm"-Werte (C_L) um in $\mu\text{mol}/\text{ml}$ (Division der C_L -Werte durch das Molvolumen eines idealen Gases bei 25°C (V') und Multiplikation mit V_L) und leitet nach der Zeit ab, so ist die Geschwindigkeit der Acetonelimination aus dem Luftraum:

$$(1) \quad v' = \frac{dC_L}{dt} \cdot \frac{V_L}{V'}$$

Berücksichtigt man nun, daß sich die Substanz im Tier um den Faktor K_{G1} angereichert hat, so muß man das virtuelle Verteilungsvolumen von Aceton im System (V_i) einsetzen, um die tatsächliche Eliminationsgeschwindigkeit von Aceton zu erhalten:

$$(2) \quad V_i = F \cdot V_L + K_{G1} \cdot V_T$$

$$(3) \quad v = \frac{dC_L}{dt} \cdot \frac{V_i}{V'}$$

Zur weiteren Standardisierung von v wurde auf 1 kg Körpergewicht bezogen:

$$(4) \quad v = \frac{dC_L}{dt} \cdot \frac{V_i}{V'} \cdot \frac{10^3}{G_T}$$

G_T = Tiergewicht in g (daher der Faktor 10^3)

Dimension von v : $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$

Folgt die Konzentrationsabnahme einer Kinetik 1.Ordnung, so gilt für die Acetonkonzentration in der Luft:

$$(5) \quad C_L(t) = C'_{Lo} \cdot e^{-kt}$$

$C_L(t)$ = Konzentration des Stoffes im Luftraum des Expositionssystems zur Zeit t

C'_{Lo} = fiktive Anfangskonzentration in der Luft zur Zeit $t=0$, unter der Annahme, daß der Verteilungsprozeß abgeschlossen ist (entspricht $C_{Lo\infty}$ in 3.1.1.1.)

k = Geschwindigkeitskonstante (Dimension: h^{-1})

C'_{Lo} und k wurden durch Anpassung einer e-Funktion an die gemessenen Werte mittels eines Rechner-Programms bestimmt. Wird die Gleichung nach der Zeit abgeleitet, so erhält man die momentane Geschwindigkeit der Konzentrationsabnahme:

$$(6) \quad \frac{dC_L}{dt} = - C'_{Lo} \cdot k \cdot e^{-kt}$$

Die Geschwindigkeit der metabolischen Elimination der Substanz ($v'(t)$) aus dem Luftraum des Systems zur Zeit t wird erhalten durch Umrechnung von C'_{Lo} in $\mu\text{mol/ml}$ (Division durch das Molvolumen eines idealen Gases bei 25°C (V') und Multiplikation mit V_L):

$$(7) \quad v'(t) = - \frac{C'_{Lo} \cdot V_L}{V'} \cdot e^{-kt}$$

Dimension von $v'(t)$: $\mu\text{mol} \cdot h^{-1}$

Die tatsächliche Momentangeschwindigkeit der metabolischen Elimination erhält man wiederum durch Berücksichtigung der Anreicherung der Substanz im Organismus:

$$(8) \quad v(t) = - \frac{C'_{Lo} \cdot V_i}{V'} \cdot k \cdot e^{-kt}$$

Dimension von $v(t)$: $\mu\text{mol} \cdot h^{-1}$

Bezogen auf ein Tiergewicht von 1 kg ergibt sich:

$$(9) \quad \frac{v(t)}{G_T \cdot 10^{-3}} = - \frac{C'_{Lo} \cdot V_i}{V'} \cdot \frac{10^3}{G_T} \cdot k \cdot e^{-kt}$$

$$\text{Dimension von } \frac{v(t)}{G_T \cdot 10^{-3}} : \quad \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$$

3.1.2.2. Metabolische Elimination von Aceton

Die kinetischen Parameter für die metabolische Elimination von Aceton wurden durch Analyse der Konzentrationsabnahme im System nach abgeschlossener Einstellung des Verteilungsgleichgewichts bestimmt. Hierzu wurden Versuchstiere verschiedenen Anfangskonzentrationen C_{Lo} ausgesetzt. Diese Anfangskonzentrationen lagen bei den verschiedenen Versuchen zwischen 400 ppm und 58000 ppm; die Versuchsdauer betrug zwischen 13 h und 32 h. Die Metabolisierungsrate wurde mit Hilfe eines Rechnerprogramms durch Anpassung einer Geraden bzw. einer e-Funktion an die Meßpunkte bestimmt. Bei langer Versuchsdauer wurde in Anbetracht der allmählichen Änderung der Kinetik die Anpassung für verschiedene Abschnitte der Meßkurve getrennt vorgenommen. Die zur Berechnung der Metabolisierungsgeschwindigkeit verwendeten Messungen lagen im Bereich von 1,5 ppm bis 3200 ppm.

In Abb.10 und in Abb.11 ist am Beispiel einiger Meßkurven der Verlauf der Konzentrationsabnahme von Aceton im Luftraum des Expositionssystems zu sehen. Hierbei zeigt sich zunächst eine rasche Abnahme der Acetonkonzentration durch Einstellung des Verteilungsgleichgewichts

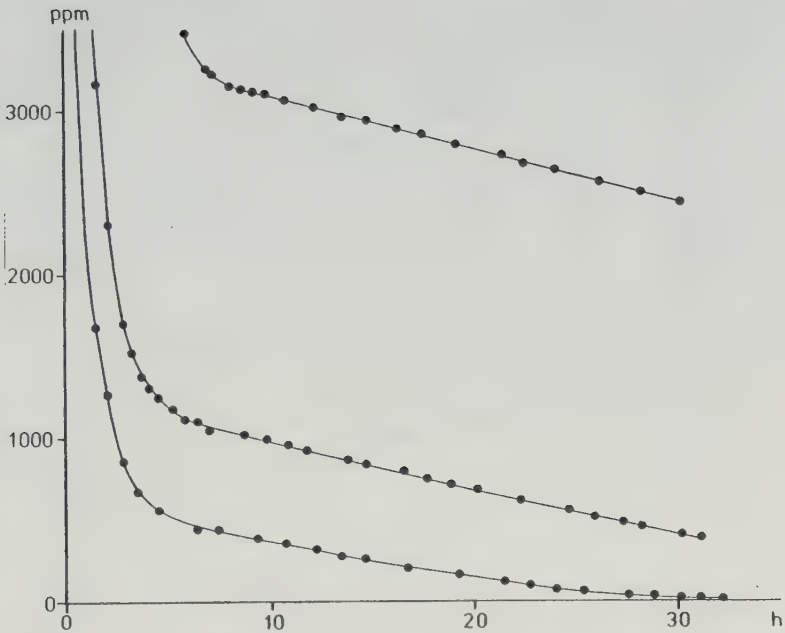


Abb. 10: Abnahme der Acetonkonzentration im Luftraum des Expositionssystems (lineare Auftragung). Die Anfangskonzentrationen betrugen bei den dargestellten Versuchen 58000 ppm, 29500 ppm und 11700 ppm.

zwischen Luftraum und Tier. Dieser Vorgang ist nach ca. 8 Stunden abgeschlossen. Die danach noch stattfindende Konzentrationsabnahme ist allein durch die metabolische Elimination bedingt. Zu sehen ist ein linearer Kurvenverlauf bei hoher Konzentration, d.h. die Geschwindigkeit der metabolischen Elimination ist von der Luftkonzentration unabhängig. An die Meßpunkte läßt sich eine Gerade besser anpassen als eine e-Funktion. Bei Konzentrationen unter 100 ppm geht der Metabolismus allmählich in eine Kinetik 1.Ordnung über; eine e-Funktion läßt



Abb. 11: Abnahme der Acetonkonzentration im Luftraum des Expositionssystems (halblogarithmische Auftragung). Die Anfangskonzentrationen betrugen bei den dargestellten Versuchen 58000 ppm, 29500 ppm, 11700 ppm und 5900 ppm.

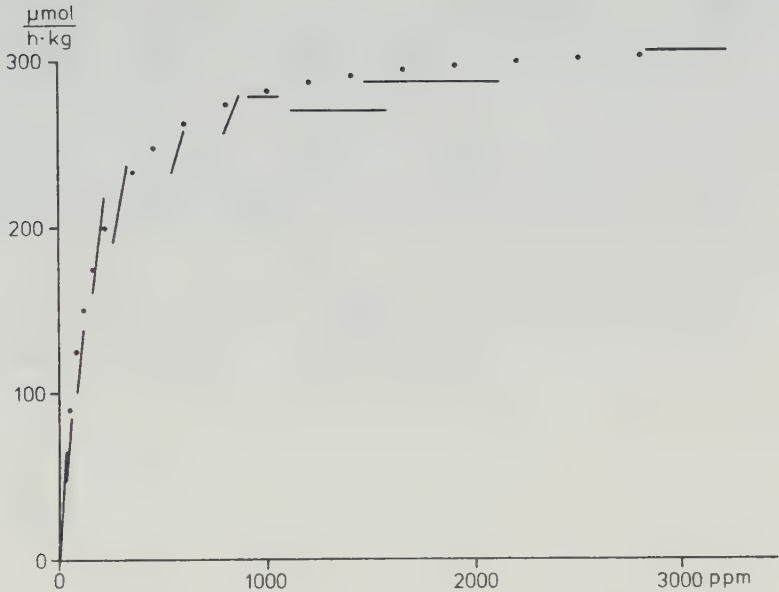


Abb. 12: Geschwindigkeit der metabolischen Eliminierung von Aceton in Abhängigkeit von der Luftkonzentration. Die durchgezogenen Linien stellen einzelne Meßkurven dar. Die berechnete Ideal-kurve einer Michaelis-Menten-Kinetik ist als gepunktete Linie eingezeichnet.

sich besser anpassen (besonders deutlich bei halblogarithmischer Auftragung; siehe Abb.11).

Die durch Anpassung der Geraden bzw. e-Funktionen ermittelten Momentangeschwindigkeiten $v_{(t)}$ wurden gegen die zu dem Zeitpunkt herrschende Luftkonzentration aufgetragen (durchgezogene Linien in Abb.12). Die Verwendung einer Anpassungsgeraden oder einer e-Funktion zur Ermittlung von $v_{(t)}$ geschah je nachdem, bei welcher Kurvenform der mit dem Rechner ermittelte Korrelationskoeffizient r höher war.

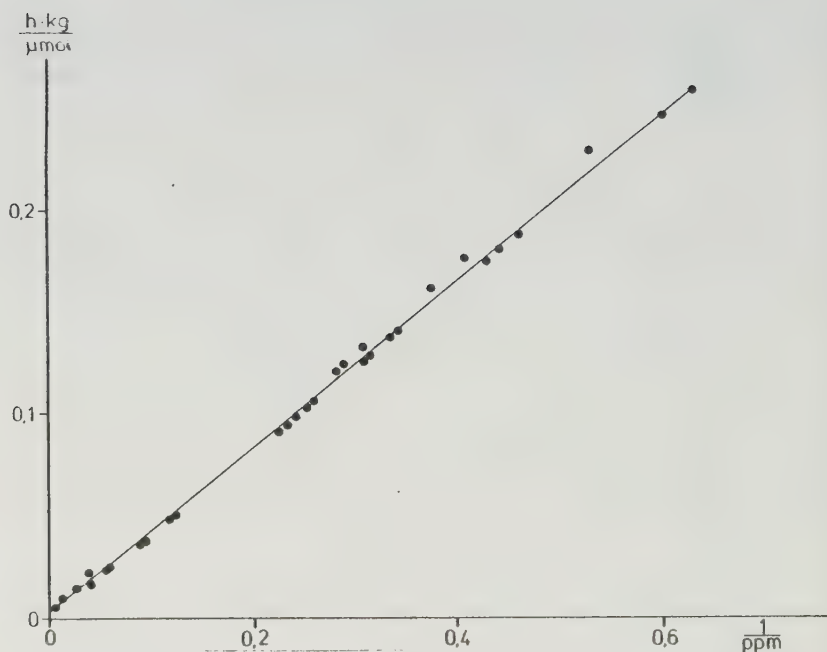


Abb. 13: Diagramm nach Lineweaver-Burk (s. Text)

Durch Bildung der Kehrwerte der Momentangeschwindigkeiten $1/v(t)$ und Auftragung gegen die Kehrwerte der Konzentration $1/C_L$ wurde ein Diagramm nach Lineweaver-Burk erhalten (Abb.13). An die Punkte ließ sich eine Gerade anpassen ($r = 0,999$). Die hohe Korrelation dieser Geraden mit den Meßpunkten zeigt, daß eine Michaelis-Menten-Kinetik eine exzellente Näherung für die Verhältnisse bei Aceton darstellt. Die errechnete Ideal-kurve bei einer Michaelis-Menten-Kinetik, also die durch Umkehr der im Lineweaver-Burk-Diagramm erhaltenen Anpassungsgeraden gebildete Kurve, ist in Abb.12 als gepunktete Linie dargestellt.

Für eine Kinetik nach Michaelis-Menten gilt:

$$- \frac{dy}{dt} = \frac{v_{\max} \cdot y}{K_m + y}$$

y = Substratkonzentration zum Zeitpunkt t

v_{max} = maximale Umsatzgeschwindigkeit

K_m = Konzentration bei halbmaximaler Umsatzgeschwindigkeit (Michaeliskonstante)

Die maximale Umsatzgeschwindigkeit v_{max} für Aceton läßt sich im Lineweaver-Burk-Diagramm als Kehrwert des Schnittpunkts der Geraden mit der Ordinate ablesen.

$$v_{\max} = 320 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$$

Die "Michaelis-Konstante" ist:

$$K_m = 128 \text{ ppm}$$

3.1.3. Kinetik der Acetonaufnahme und der Acetonabatmung

3.1.3.1. Theoretische Grundlagen

Unter der Voraussetzung, daß kein Metabolismus stattfindet und der Atemkalk kein Aceton aufnimmt, gilt für die initiale Aufnahme eines Fremdstoffes in den Organismus folgendes (Filser, 1979):

Die Änderung der Acetonmenge im Gasraum des Expositionssystems ist Summe zweier Partialprozesse, nämlich der Molekülbewegung aus der Luft in den Organismus (Partialprozeß 12) und der umgekehrten Bewegung (Partialprozeß 21), (Abb.14):

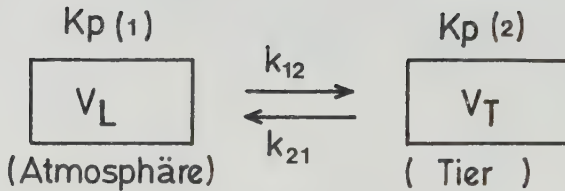


Abb. 14: Kinetisches Modell der Gasaufnahme in den Organismus bei nicht stattfindendem bzw. vernachlässigtem Metabolismus.
Kp = Kompartiment

Bei der Gasaufnahme in den Organismus (Partialprozeß 12) ist die Änderung der Acetonmenge im Gasraum (dM_L) proportional einem Grenzflächenfaktor $\emptyset$ und der Acetonkonzentration im Luftraum:

$$(1) \quad dM_L = -a \cdot \emptyset \cdot C_L \cdot dt$$

Da

$$(2) \quad C_L = \frac{M_L}{V_L},$$

gilt:

$$(3) \quad \frac{dC_{L12}}{dt} = \frac{1}{V_L} \cdot \frac{dM_L}{dt}$$

- a = Proportionalitätskonstante
- M_L = Acetonmenge in der Luft
- V_L = Luftvolumen
- C_L = Acetonkonzentration in der Luft

Durch Einsetzen von Gleichung (1) in Gleichung (3) ergibt sich:

$$(4) \quad \frac{dC_{L12}}{dt} = -a \cdot \frac{\emptyset}{V_L} \cdot C_L$$

Bei gleich großen Tieren derselben Spezies ist $\emptyset$ stets gleich groß; daher lassen sich die Konstanten als k_{12} zusammenfassen:

$$k_{12} = \frac{a \cdot \emptyset}{V_L}$$

$$(5) \quad \frac{dC_{L12}}{dt} = -k_{12} \cdot C_L$$

Analog gilt für die Rückdiffusion aus dem Gewebe (Partialprozeß 21):

$$(6) \quad \frac{dC_{T21}}{dt} = -k_{21} \cdot C_T$$

Für die Gesamtmenge des Gases im System gilt:

$$(7) \quad C_L \cdot V_L + C_T \cdot V_T = C_{Lo} \cdot V_L$$

Da

$$(8) \quad \frac{dC_T}{dt} = \frac{dC_{T21}}{dt} + \frac{dC_{T12}}{dt}$$

ergibt sich aus (7) für den Partialprozeß 12 :

$$(9) \quad \frac{dC_{T12}}{dt} = -\frac{V_L}{V_T} \cdot \frac{dC_{L12}}{dt}$$

Setzt man (5) in (9) ein, so erhält man

$$(10) \quad \frac{dC_{T12}}{dt} = \frac{V_L}{V_T} \cdot k_{12} \cdot C_L$$

Laut (7) ist

$$(11) \quad C_L = C_{Lo} - C_T \cdot \frac{V_T}{V_L}$$

Durch Einsetzen in (10) ergibt sich:

$$(12) \quad \frac{dC_{T12}}{dt} = k_{12} \cdot \frac{V_L}{V_T} \cdot C_{Lo} - k_{12} \cdot C_T$$

Setzt man (6) und (12) in (8) ein, so gilt:

$$(13) \quad \frac{dC_T}{dt} + (k_{12} + k_{21}) \cdot C_T - k_{12} \cdot \frac{V_L}{V_T} \cdot C_{Lo} = 0$$

Die Lösung dieser Differentialgleichung lautet:

$$(14) \quad C_T(t) = \frac{k_{12} \cdot V_L/V_T}{k_{12} + k_{21}} \cdot C_{Lo} \cdot \left[1 - e^{-(k_{12}+k_{21})t} \right]$$

Wenn $t \rightarrow \infty$, so ist

$$(15) \quad C_{T\infty} = \frac{k_{12} \cdot V_L/V_T}{k_{12} + k_{21}} \cdot C_{Lo}$$

$C_T(t)$ = Konzentration des Gases im tierischen Gewebe zum Zeitpunkt t

$C_{T\infty}$ = Konzentration des Gases im Tier nach Abschluß der Verteilungsvorgänge

Wenn

$$(16) \quad k_{12} + k_{21} = k$$

gesetzt wird, so lautet Gleichung (14) :

$$(17) \quad C_T(t) = C_{T\infty} \cdot \left(1 - e^{-kt} \right)$$

3.1.3.2. Kinetik der Acetonaufnahme in den Organismus bis zur Gleichgewichtseinstellung

Um die initiale Einstellung des Verteilungsgleichgewichts für Aceton zwischen der Luft und dem Tier zu untersuchen, muß zunächst dieser Vorgang von der gleichzeitig stattfindenden metabolischen Elimination getrennt werden. Eine Möglichkeit hierzu ergibt sich durch Hemmung des Metabolismus mittels einer Hemmsubstanz. Eine andere Möglichkeit ist die Extrapolation der gemessenen Kurve nach Ablauf der initialen Phase der Gleichgewichtseinstellung auf $t=0$ und Errechnung der Differenz zu den in der Initialphase tatsächlich gemessenen Werten.

Ferner muß die innerhalb der ersten Stunde stattfindende Aufnahme von Aceton in den Atemkalk berücksichtigt werden. Wie in Kapitel 2.9. erläutert, vergrößern 135 g Atemkalk im 6380 ml fassenden Exsikkator das Verteilungsvolumen für Aceton um die Hälfte des Luftvolumens. Dieses ist jedoch erst nach ca. 1 Stunde der Fall; zuvor hat der Atemkalk nur einen Teil (x) seiner Aufnahmekapazität erreicht. Somit gilt zum Zeitpunkt t :

$$(1) \quad M = M_{L(t)} \cdot (1 + x \cdot 0,5) + M_{Met(t)} + M_T(t)$$

M = gesamte Acetonmenge im System bei Versuchsbeginn

$M_{L(t)}$ = Acetonmenge im Luftraum zum Zeitpunkt t

$M_{Met(t)}$ = bis zum Zeitpunkt t metabolisierte Acetonmenge

$M_T(t)$ = zum Zeitpunkt t in den Tieren befindliche Acetonmenge

Dimension von M , $M_L(t)$, $M_{Met}(t)$, $M_T(t)$: μmol

Der Wert für x konnte für jedes t aus der Abb.8 abgelesen werden, in welcher die Aufnahme von Aceton in den Atemkalk dargestellt ist.

Aus (1) erhält man:

$$(2) \quad C_{Lo} \cdot \frac{V_L}{V_T} = C_L(t) \cdot (1+x \cdot 0,5) \cdot \frac{V_L}{V_T} + M_{Met}(t) + C_T(t) \cdot \frac{V_T}{V_T}$$

$C_L(t)$ = Acetonkonzentration in der Luft zur Zeit t

$C_T(t)$ = Konzentration von Aceton als Gas im tierischen Gewebe zum Zeitpunkt t

Durch Umformung erhält man:

$$(3) \quad C_T(t) = C_{Lo} - C_L(t) \cdot (1+x \cdot 0,5) \cdot \frac{V_L}{V_T} - M_{Met}(t) \cdot \frac{V_T}{V_T}$$

Dimension von $C_T(t)$: nl gelöstes Gas pro ml Gewebsvolumen (entspricht "ppm")

Unter Verwendung dieser Formel wurde nun $C_T(t)$ ermittelt. Bei dem in Abb.9 dargestellten Versuch waren:

$$C_{Lo} = 58000 \text{ ppm}$$

$$V_L = 5895 \text{ ml}$$

$$V_T = 410 \text{ ml}$$

Da sich der Metabolismus über die gesamte Versuchsdauer im Bereich der Sättigung befand, galt

$$(4) \quad M_{Met}(t) = v_{\max} \cdot t \cdot V_T \cdot 10^{-3}$$

Dimension von $v_{\max}$: $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$

Durch Einsetzen der diversen Werte für diesen Versuch in Gleichung (3) wurde für jeden Zeitpunkt t die Acetonkonzentration im Tier erhalten. Durch Auftragen von C_T gegen die Zeit ergab sich die in Abb.15 als durchgezogene Linie dargestellte Kurve.

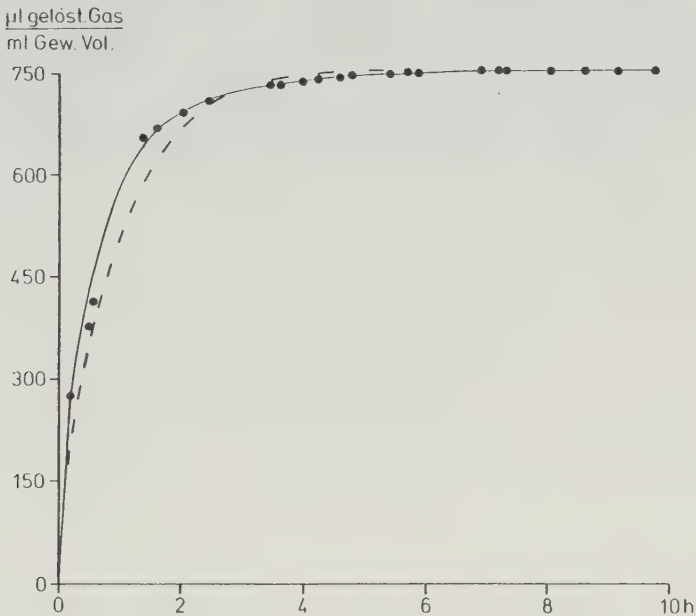


Abb. 15: Zunahme der Acetonkonzentration im Organismus bei ausschließlicher Berücksichtigung der Verteilungsprozesse.
 $C_{Lo} = 58000 \text{ ppm}$; $C_{T\infty} = 760 \mu\text{l Gas/ml Gewebsv.}$
Durchgezogene Linie: gemessene Kurve
Gestrichelte Linie: berechnete Kurve

Die Acetonkonzentration im Tier nach Abschluß des Verteilungsvorgangs ($C_{T\infty}$) betrug 760 μl gelöstes Gas pro ml Gewebsvolumen ($= \text{"ppm"} \cdot 10^3$). 99% von $C_{T\infty}$ war nach 4,19 Stunden erreicht; nach 8 Stunden war der Verteilungsprozeß praktisch abgeschlossen. Da $K_{G1} = C_{T\infty}/C_{L\infty}$ (Formel 5 in 3.1.1.1.) ergab sich für diesen Versuch eine Gleichgewichtskonstante von 222, welches dem in 3.1.1.2. gefundenen Mittelwert sehr gut entsprach. Berücksichtigt man die Anreicherung von Aceton im Tier, so zeigt sich, daß die Konzentration, bei der der Metabolismus in etwa gesättigt ist (1000 ppm in der Luft bzw. 220 μl Gas/ml Gewebsvolumen im Tier) schon nach acht Minuten erreicht war, so daß bei diesem Versuch eine Metabolisierungsrate von $v_{\max}$ für die gesamte Aufnahmephase angenommen werden konnte.

Nach Gleichung (17) in 3.1.3.1. gilt für die Gasaufnahme in den Organismus:

$$(5) \quad C_T(t) = C_{T\infty} \cdot (1 - e^{-kt})$$

Mit Hilfe eines programmierbaren Rechners wurden die Werte für $C_T(t)$ dieser Idealkurve angepaßt und k ermittelt. Es ergab sich:

$$k = - 1,1 \text{ h}^{-1}$$

Der Korrelationskoeffizient für die Meßpunkte zu dieser Idealkurve betrug: $r = 0,9$.

Die nach Formel (5) angepaßte e-Funktion ist in Abb.15 als gestrichelte Linie dargestellt.

Wie in 3.1.3.1. erläutert, ist dieser Vorgang der Gleichgewichtseinstellung die Summe zweier Partialprozesse, nämlich der Gasaufnahme in den Organismus und der gleichzeitigen Rückdiffusion in die Luft. Zu Beginn des oben

beschriebenen Versuchs bewirkte der Konzentrationsgradient von Aceton ein Überwiegen der Aufnahme von Acetonmolekülen in das Tier; nach ca. 8 Stunden waren beide Vorgänge gleich schnell, d.h. es hatte sich ein Gleichgewicht eingestellt. Somit gilt:

$$(6) \quad \frac{dM_L}{dt} = \frac{dM_T}{dt}$$

dM_L = Änderung der Acetonmenge (Dimension: μmol)
in der Luft

dM_T = Änderung der Acetonmenge im Tier

Im Gleichgewicht geht also für jedes Molekül, welches in das Tier aufgenommen wird, ein Molekül aus dem Tier hinaus. Durch Einsetzen von (5) und (6) aus 3.1.3.1. ergibt sich:

$$(7) \quad k_{12} \cdot \frac{V_L}{\emptyset} \cdot C_L = k_{21} \cdot \frac{V_T}{\emptyset} \cdot C_T$$

Somit ist die "Verteilungskonstante" K_{G1} :

$$(8) \quad K_{G1} = \frac{C_{T\infty}}{C_{L\infty}} = \frac{k_{12} \cdot V_L}{k_{21} \cdot V_T}$$

Da laut (16) in 3.1.3.1. $k = k_{12} + k_{21}$

lassen sich nun k_{12} und k_{21} mit der Formel (8) errechnen:

$$k_{12} = K_{G1} \cdot k_{21} \cdot V_T/V_L \quad ; \quad k_{12} = k - k_{21}$$

$$k_{21} \cdot (1 + K_{G1} \cdot V_T/V_L) = k$$

$$(9) \quad k_{21} = \frac{k}{1 + K_{G1} \cdot V_T/V_L}$$

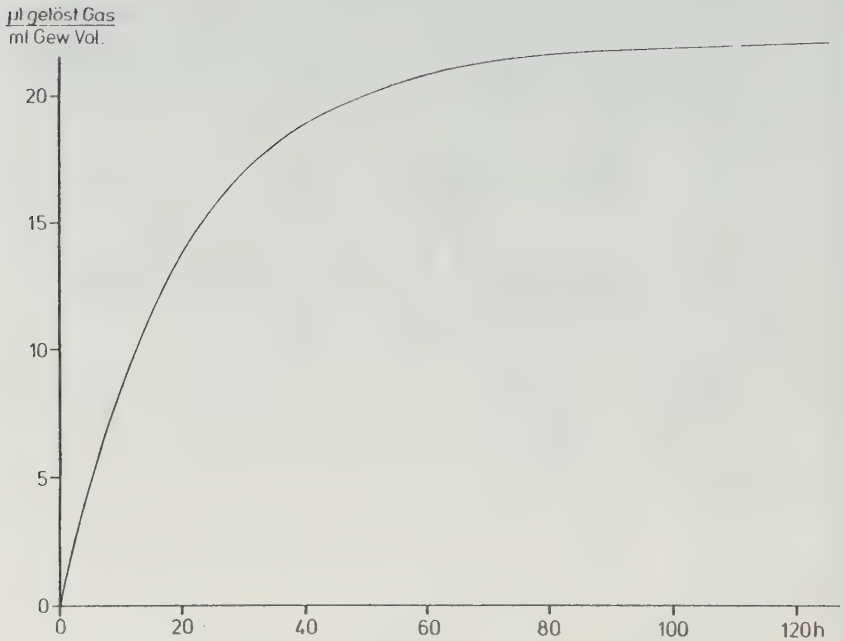


Abb. 16: Acetonaufnahme aus der Luft in das Tier bei einer gleichbleibenden atmosphärischen Acetonkonzentration von 100 ppm und einem Tiervolumen von 1000 ml. Die Endkonzentration von Aceton im Tier beträgt 22 μl gelöstes Gas pro ml Gewebsvolumen.

Somit zeigt sich, daß die Geschwindigkeitskonstanten k_{12} und k_{21} nicht allgemeingültig sind, sondern von der Größe des Tieres und des Luftraums abhängen. Bei dem hier vorliegenden Versuch waren:

$$k_{12} = -1,2196 \quad k_{21} = 0,1196$$

Um für die hier verwendete Spezies eine Standardisierung vorzunehmen, wurden als Bedingungen ein unendlich großer Luftraum mit einer gleichbleibenden atmosphärischen Ace-

tonkonzentration von 100 ppm sowie ein Tiervolumen von 1000 ml angenommen. Wenn nun V_L , wie angenommen, unendlich groß ist, wird k_{12} unendlich klein, d.h.

$k = k_{21}$. Die durch Einsetzen in die Formel (5) erhaltene Aufnahmekurve für Aceton in das Tier unter den oben genannten Standardbedingungen ergab die in Abb. 16 dargestellte Kurve. Die Halbwertszeit der Acetonaufnahme beträgt hierbei:

$$t_{1/2} \text{ (Acetonaufnahme)} = 14,14 \text{ h}$$

3.1.3.3. Kinetik der Acetonabatmung

Im vorangegangenen Abschnitt wurde untersucht, wie sich das Verteilungsgleichgewicht für Aceton einstellt, wenn sich die Substanz zu Versuchsbeginn ausschließlich in der Atmosphäre befindet. Der umgekehrte Vorgang, d.h. die Abgabe von Aceton aus dem Tier in den Luftraum, wurde nun im folgenden Versuch untersucht:

2 Ratten wurden in einem Exsikkator für 12 Stunden gegen eine hohe atmosphärische Konzentration von Aceton exponiert. Anschließend wurde das Expositionsgefäß im Abzug geöffnet, und die Ratten sofort in einen sich außerhalb des Abzugs befindlichen Exsikkator umgesetzt. Nun wurde der Anstieg der Acetonkonzentration im Luftraum des letzteren gaschromatographisch gemessen (Abb.17). Die Versuchsbedingungen waren:

$$V_L = 5981 \text{ ml}$$

$$V_T = 324 \text{ ml}$$

Beide Exsikkatoren enthielten 135 g Atemkalk. Das Gewicht der Tiere hatte zu Beginn der Exposition 360 g betragen. Durch Wiegen gleich schwerer Tiere in einem Kontrollver-

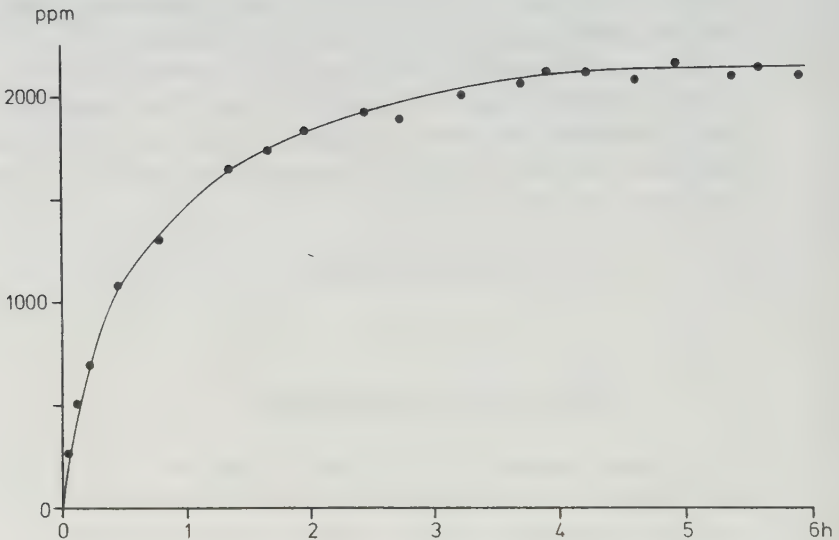


Abb. 17: Zunahme der Acetonkonzentration im Luftraum des Expositionssystems durch Abatmung aus dem Tier. Die Endkonzentration in der Luft beträgt 2130 ppm.

such wurde ermittelt, daß die Ratten zur Zeit des Umsetzens 10% ihres Körpergewichts verloren hatten, also nur noch 324 g wogen.

Durch Messung wurde erhalten:

$$C_{L(vor)} = 2615 \text{ ppm}$$

$$C'_{L(nach)} = 2130 \text{ ppm}$$

$C_{L(vor)}$ = Luftkonzentration von Aceton im ersten Exsikkator unmittelbar vor dem Umsetzen der Tiere

$C'_{L(nach)}$ = Acetonkonzentration im Luftraum des zweiten Exsikkators nach Abschluß der Verteilungsvorgänge

Zum Zeitpunkt des Umsetzens betrug die Acetonmenge in den Tieren:

$$(1) \quad M_T = \frac{C_{L(vor)}}{V_T} \cdot K_{G1} \cdot V_T$$

Das in den Tieren befindliche Aceton verteilte sich nach dem Umsetzen neu zwischen den Tieren, dem Luftraum und dem Atemkalk im zweiten Exsikkator. Da

$$V_i = F \cdot V_L + K_{G1} \cdot V_T \quad ((2) \text{ in } 3.1.2.1.)$$

gilt nach Abschluß der Neuverteilung:

$$(2) \quad M = \frac{C'_{L(nach)}}{V_T} \cdot (F \cdot V_L + K_{G1} \cdot V_T)$$

Da die Acetonmenge im gesamten System (M) nach Abschluß des Verteilungsvorgangs gleich der Menge im Tier beim Umsetzen war, also $M_T = M$, erhält man durch Gleichsetzung von (1) und (2) :

$$(3) \quad \frac{C_{L(vor)}}{V_T} \cdot K_{G1} \cdot V_T = \frac{C'_{L(nach)}}{V_T} \cdot (F \cdot V_L + K_{G1} \cdot V_T)$$

$$(4) \quad K_{G1} = \frac{C'_{L(nach)} \cdot F \cdot V_L}{V_T \cdot (C_{L(vor)} - C'_{L(nach)})}$$

Dieses gilt jedoch nur, wenn M und M_T gleich sind, d.h. wenn während des Versuchs kein Metabolismus erfolgt.

Da für die Geschwindigkeit des Metabolismus die Acetonkonzentration im Tier entscheidend ist, und diese somit bei ca. $300 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ lag (entsprechend einer Luftkonzentration von 2100 ppm bis 2300 ppm in Abb.12), waren in den 6 Stunden Versuchsdauer nach Umsetzen

583 μmol Aceton, entsprechend einer Konzentrationsdifferenz von 183 ppm, verbraucht worden. Für $C'_L(\text{nach})$ mußten in Gleichung (4) also 2313 ppm eingesetzt werden. Es errechnete sich:

$$K_{G1} = 212$$

Dieses Ergebnis bestätigte den in 3.1.1.2. ermittelten Wert.

Laut (17) in 3.1.3.1. und (8) in 3.1.3.2. gilt für die Aufnahme von Aceton in das Tier:

$$C_T(t) = C_{T\infty} \cdot [1 - e^{-kt}] ; \quad K_{G1} = \frac{k_{12} \cdot V_L}{k_{21} \cdot V_T}$$

Entsprechend gilt für die Abatmung von Aceton, d.h. für die Aufnahme von Aceton in der Luft:

$$C_L(t) = C_{L\infty} \cdot [1 - e^{-kt}] ; \quad \frac{1}{K_{G1}} = \frac{k_{21} \cdot V_T}{k_{12} \cdot V_L}$$

Mittels eines programmierbaren Rechners wurde diese e-Funktion den im Versuch erhaltenen Meßpunkten angepaßt und k bestimmt. Es errechnete sich:

$$k = -1,15$$

Da $k = k_{12} + k_{21}$, bestätigte sich die Gültigkeit der in 3.1.3.2. erläuterten Kinetik auch für die Abatmung von Aceton, zumal bei beiden Versuchen vergleichbare Versuchsbedingungen (V_L , V_T) herrschten.

3.1.3.4. Abatmung von Aceton nach oraler Applikation

Bei den bisher beschriebenen Versuchen war Aceton den Versuchstieren stets inhalatorisch zugeführt worden. Um festzustellen, ob bei anderen Applikationsformen die

gleichen pharmakokinetischen Prinzipien gelten, wurde der folgende Versuch durchgeführt:

Zwei Ratten erhielten je 50 μ l Aceton per os, indem diese Menge jeweils in 2 ml Leitungswasser gelöst und per Schlundsonde appliziert wurde. Die Tiere wurden daraufhin sofort in einen Exsikkator mit 135 g Atem- gebracht. Die Acetonkonzentration im Luftraum des Systems wurde gaschromatographisch bestimmt. Bei Auf- tragung gegen die Zeit ergab sich die in Abb.18 als durchgezogene Linie gezeichnete Kurve.

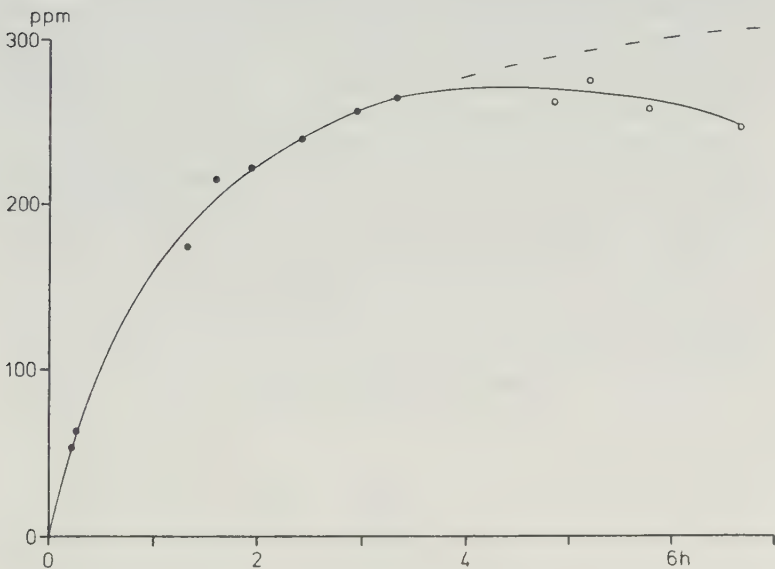


Abb. 18: Zunahme der Acetonkonzentration in der Luft des Expositionssystems durch Abatmung aus zwei Versuchstieren nach oraler Gabe von 100 μ l der Substanz. Die gestrichelte Kurve kennzeichnet den fiktiven Verlauf bei gehemmtem bzw. vernachlässigtem Metabolismus.

Die Versuchsbedingungen waren:

$$V_L = 5905 \text{ ml}$$

$$V_T = 400 \text{ ml}$$

Der Exsikkator enthielt 135 g Atemkalk.

Die Acetonkonzentration in der Luft stieg zunächst rasch an, erreichte ein Maximum und nahm dann wieder langsam ab. Dieser langsame Abfall läßt sich durch den gleichzeitig stattfindenden Metabolismus erklären. Bei dem in 3.1.3.3. dargestellten Versuch war dieses Phänomen nicht zu beobachten, da die Acetonkonzentration, und somit die bei der Verteilung bewegte Menge, ungleich höher war als

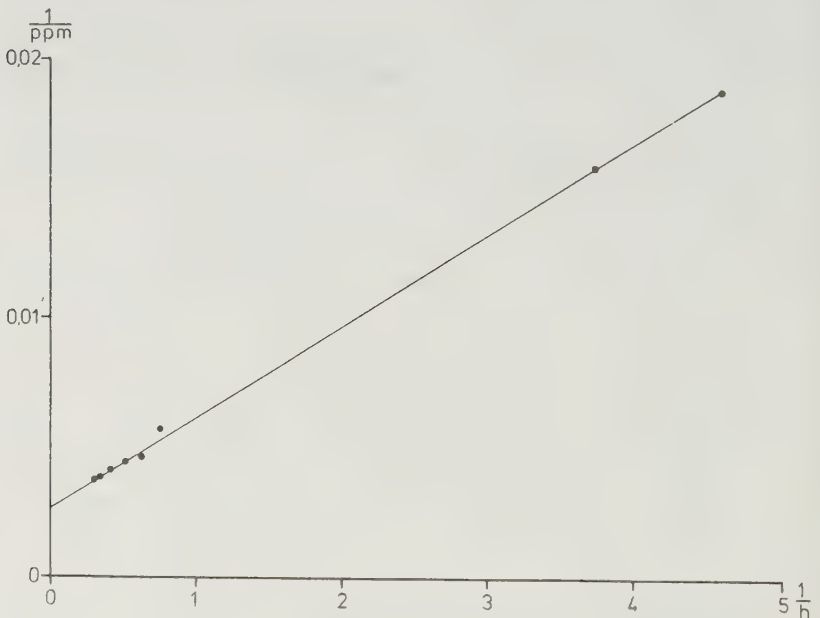


Abb. 19: Kehrwerte der Acetonkonzentration in der Luft gegen den Kehrwert der Zeit aufgetragen. (Acetonabatemung nach oraler Applikation) nähere Erklärung s. Text

der Verbrauch durch den Metabolismus. In dem vorliegenden Versuch wurde den Tieren jedoch eine geringere Acetonmenge appliziert, um eventuelle Unverträglichkeiten bei der oralen Gabe zu vermeiden.

Hätte kein Metabolismus stattgefunden, hätte sich bei Abschluß des Verteilungsvorgangs eine höhere Acetonkonzentration im Luftraum eingestellt als das Maximum der Meßkurve. Dieses imaginäre $C'_{L\infty}$ wurde ermittelt, indem die Kehrwerte der Konzentration ($1/C_L$) gegen den Kehrwert des entsprechenden Zeitpunkts aufgetragen wurde (Abb.19). Mit Hilfe eines Rechners wurde eine Gerade an die ermittelten Punkte angepaßt. Der Korrelationskoeffizient r betrug hierbei 0,9996. Hierzu wurden nur die Punkte im aufsteigenden Schenkel der Abatmungskurve verwendet (in Abb.18 als ausgefüllte Punkte gekennzeichnet). Der Kehrwert des Schnittpunkts der in Abb.19 gezeigten Anpassungsgeraden mit der Ordinate konnte als $C'_{L\infty}$ angenommen werden. Der Vorteil der hier angewandten Methode lag darin, daß, wie beim Vergleich zwischen Abb.18 und Abb.19 zu sehen ist, bei der Anpassung der Geraden durch den Rechner eine Gewichtung zu Gunsten der Kehrwerte der geringeren Luftkonzentrationen stattfand. Dieses war erwünscht, da im Verlauf der gezeigten Konzentrationszunahme der Metabolismus immer mehr zur Abflachung der Meßkurve (Abb.18) führte.

Es errechnete sich: $C'_{L\infty} = 366 \text{ ppm}$

Hätten sich die 100 µl Aceton zu Versuchsbeginn im Luftraum des Exsikkators befunden, hätte dieses nach der in 2.4.1. angegebenen Berechnungsmethode ergeben:

$$C'_{L_0} = 5789 \text{ ppm}$$

C'_{L_0} = fiktive Anfangskonzentration von Aceton in der Luft.

Durch Einsetzen in die Formel (6) aus 3.1.1.1. :

$$K_{G1} = \frac{V_L}{V_T} \cdot \left(\frac{C_{Lo}}{C_{L\infty}} - F \right)$$

erhält man: $K_{G1} = 211$

Der rechnerisch ermittelte Wert für $C'_{L\infty}$ wurde nun verwendet, um mit Hilfe eines Rechnerprogramms eine e-Funktion den Meßpunkten anzupassen. Für die Kinetik 1. Ordnung wurde eine Geschwindigkeitskonstante k von $-0,8$ errechnet.

3.2. Ausscheidung von Ameisensäure als Metabolit von Aceton

Um die Ausscheidung von Ameisensäure unter Acetonexposition zu verfolgen, wurde der folgende Versuch durchgeführt:

Zwei Ratten wurden 48 Stunden lang in dem in Abb.2 gezeigten System gegen eine Acetonkonzentration von 62000 ppm bei Versuchsbeginn exponiert. Nach Abschluß der initialen Verteilungsphase lag die Luftkonzentration bei 2410 ppm und betrug 48 Stunden nach Versuchsbeginn 1140 ppm. Somit lag die Konzentration stets im Bereich der Sättigung des Metabolismus. Nach 48 Stunden wurde die Acetonexposition abgebrochen. Von nun an erhielten die Tiere Leitungswasser und Futter ad libitum. Während der Exposition, sowie an den folgenden 7 Tagen nach Expositionsende wurde in periodischen Abständen der Harn der Tiere gesammelt, und die enthaltene Ameisensäure nach der in 2.6. beschriebenen Methode bestimmt. Wurde die Summe der bis zu einem Zeitpunkt ausgeschiedenen Ameisensäure gegen die Zeit aufgetragen,

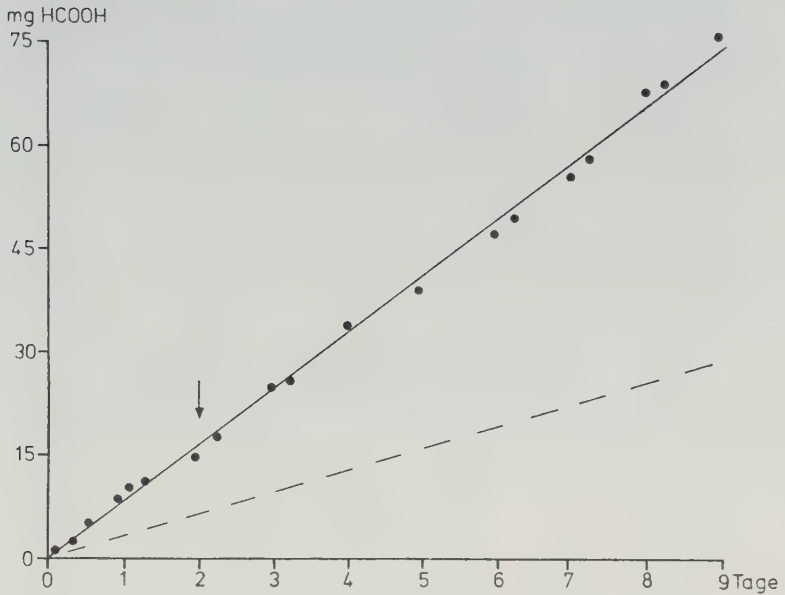


Abb. 20: Ameisensäureausscheidung bei Acetonexposition. Die Exposition erfolgte unter $v_{\max}$ -Bedingungen bis zu dem mit einem Pfeil gekennzeichneten Zeitpunkt. Die gestrichelte Linie stellt die Ameisensäureausscheidung nicht-exponierter Ratten dar.

so ergab sich die in Abb.20 als durchgezogene Linie gezeichnete Gerade. Demnach wurden über einen Zeitraum von 9 Tagen konstant 0,344 mg Ameisensäure pro h ausgeschieden. Die Korrelation der Meßwerte mit der Anpassungsgeraden war: $r = 0,998$. Die mittlere Ameisensäurekonzentration des Harns betrug 0,366 mg/ml. Der bei der Erstellung der Eichkurve in 2.6. ermittelte Ameisensäuregehalt des Harns unbehandelter Tiere betrug 0,144 mg/ml. Bei einer mittleren Urinausscheidung der beiden Tiere von 0,94 ml/h betrug die Ameisensäureaus-

scheidung der nicht gegen Aceton exponierten Tiere 0,140 mg HCOOH pro h. Diese ist in Abb.20 als gestrichelte Linie eingezeichnet. Die Ameisensäureausscheidung der gegen Aceton exponierten Tiere war also um den Faktor 2,6 größer als die Ameisensäureausscheidung nicht-exponierter Tiere. Auch 7 Tage nach Abbruch der Exposition war noch keine Änderung der Ausscheidungsrate erkennbar.

Ameisensäureausscheidung nach 48 Stunden Acetonexposition bei $v_{\max}$:

366 μg HCOOH /ml Urin
bzw. 344 μg HCOOH /h (2 Tiere)

Ameisensäureausscheidung nicht-exponierter Tiere:

144 μg HCOOH /ml Urin
bzw. 140 μg HCOOH /h (2 Tiere)

3.3. Bildung von Aceton unter Einwirkung von Vinylidenfluorid auf den Organismus der Ratte

3.3.1. Acetonproduktion und Metabolismus

Wie Filser (1979) beschreibt, kommt es bei der Exposition von Ratten gegen halogenierte Äthylene zu einer verstärkten Exhalation von Aceton. Um die Geschwindigkeit der Entstehung von Aceton unter diesen Bedingungen am Beispiel von Vinylidenfluorid zu bestimmen, wurde der folgende Versuch durchgeführt:

Zwei Ratten wurden in dem in 2.3.1. beschriebenen geschlossenen System für eine Dauer von 55 Stunden einer (initialen) Konzentration von Vinylidenfluorid (VF_2)

im Luftraum von 1000 ppm ausgesetzt. Auf Grund des sehr langsamen Metabolismus von VF_2 lag die Luftkonzentration dieser Substanz über die gesamte Versuchsdauer hinweg im Sättigungsbereich des Metabolismus (Filser, 1979). Wenige Stunden nach Versuchsbeginn zeigte sich eine allmähliche und stetige Erhöhung der Acetonkonzentration im System (Abb.21). Es ist hierbei stets zu berücksichtigen, daß die unter VF_2 -Exposition tatsächlich gebildete Acetonmenge wesentlich größer ist als die an den Luftraum abgegebene, denn die Substanz reichert sich im tierischen Organismus um den Faktor K_{G1} an. Die Retentionszeit bei der gaschromatographischen Analyse war für Aceton typisch (1,5 min. bei 110°C): Zum Vergleich wurde ein Exsikkator mit Ratten aufgestellt, in den kein Vinyl-

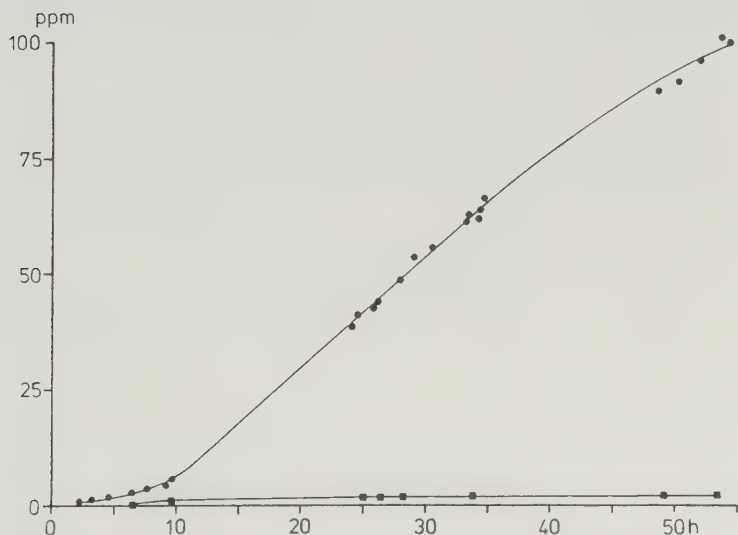


Abb. 21: Anstieg der Acetonkonzentration im System (Punkte) bei Exposition zweier Ratten gegen 1000 ppm VF_2 . Die Rechtecke stellen die Acetonabgabe von nicht gegen VF_2 exponierten Tieren dar.

denfluorid gegeben wurde. Wie in Abb.21 zu erkennen ist, zeigt sich bei Acetonkonzentrationen in der Atmosphäre von über 75 ppm eine allmähliche Abflachung der Kurve, so daß nach längerer Zeit ein Plateau zu erwarten wäre, d.h. man hätte bei noch längerer Exposition eine maximale Acetonkonzentration im Luftraum erreicht. Bei dieser Konzentration wären dann die Bildungsgeschwindigkeit und die Metabolisierungsgeschwindigkeit von Aceton gleich groß, so daß die Acetonkonzentration im System im Sinne eines Fließgleichgewichts konstant bliebe. Bei niedrigen Konzentrationen überwiegt die Bildung von Aceton, bei höheren dagegen die metabolische Elimina-

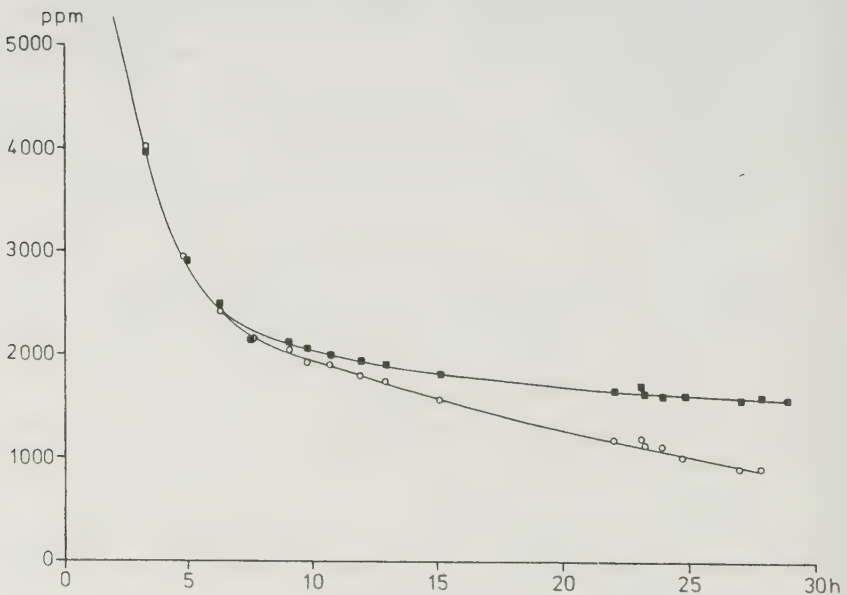


Abb. 22: Abnahme der Acetonkonzentration im Luftraum des Systems bei Exposition von 2x 2 Ratten gegen eine Anfangskonzentration von 29000 ppm Aceton. Ein Exsikkator (Rechtecke) enthielt gleichzeitig 1000 ppm VF_2 , der Kontroll-exsikkator (Kreise) dagegen kein VF_2 .

tion. Letzteres zeigt sich bei dem folgenden Versuch (Abb.22):

In zwei Exsikkatoren wurden jeweils zwei Ratten gesetzt und eine initiale Acetonkonzentration von 29000 ppm in der Atmosphäre hergestellt. Die Dosierung erfolgte wie in 2.4. beschrieben. In eines der beiden Systeme wurde gleichzeitig eine initiale atmosphärische Vinylidenfluoridkonzentration von 1000 ppm hergestellt (Dosierung s. 2.4.2.). Nach einem raschen initialen Abfall des Acetons in beiden Systemen, bedingt durch die Einstellung des Verteilungsgleichgewichts, nahm die Acetonkonzentration im Exsikkator mit Vinylidenfluorid deutlich langsamer ab als im anderen. Auf Grund der gleichzeitigen Acetonproduktion führte die metabolische Elimination somit zu einem geringeren Konzentrationsabfall von Aceton als im anderen System.

3.3.2. Bestimmung der maximalen Bildungsgeschwindigkeit für Aceton unter Exposition gegen Vinylidenfluorid

Durch den folgenden Versuch wurde die maximale Bildungsgeschwindigkeit für Aceton unter der Einwirkung von Vinylidenfluorid ermittelt (Abb.23):

Jeweils zwei Ratten wurden in verschiedenen Exsikkatoren gegen 1000 ppm Vinylidenfluorid exponiert. Gleichzeitig wurde in jeden Exsikkator eine unterschiedliche Menge Aceton eingegeben. Die Anfangskonzentrationen lagen hierbei zwischen 1000 ppm und 58000 ppm. Nach Ablauf von 17 Stunden, als die initiale Einstellung des Verteilungsgleichgewichts also längst abgeschlossen war, wurde der Verlauf der Acetonkonzentration im System verfolgt. In den Exsikkatoren mit geringer Acetonkonzentration in der Luft stieg diese an; in den Expositi-

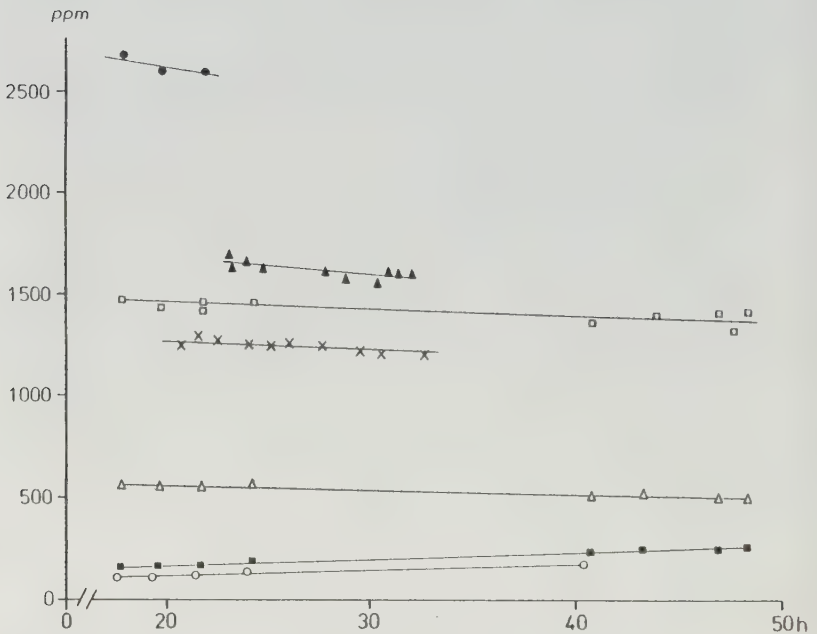


Abb. 23: Veränderung der Acetonkonzentration im Luft-
raum des Exsikkators bei gleichzeitiger Ex-
position der Versuchstiere gegen 1000 ppm VF_2 .
Die verschiedenen Symbole stellen verschie-
dene Exsikkatoren mit verschiedenen C_{L0} von
Aceton dar.

onssystemen mit hoher atmosphärischer Acetonkonzentra-
tion nahm diese ab. Mit Hilfe eines programmierbaren
Rechners wurde nun für jeden Exsikkator eine Gerade an
die Meßpunkte angepaßt und die jeweilige Steigung, d.h.
die Zunahme der Acetonkonzentration in ppm pro Stunde
($\Delta\text{ppm/h}$), bestimmt. Bei Abnahme der Acetonkonzentration
in der Luft war $\Delta\text{ppm/h}$ negativ. Wurde dieser Wert je-
weils gegen die mittlere, während des Versuchs im jewei-

ligen Exsikkator herrschende, Acetonkonzentration in der Luft aufgetragen, so ergaben sich die in Abb.24 gezeigten Punkte. Der Schnittpunkt der mit Hilfe eines Rechners angepaßten Geraden mit der Abszisse lag bei 530 ppm. Die Korrelation dieser Geraden mit den Punkten war:

$$r = 0,948$$

Bei einer atmosphärischen Acetonkonzentration von ca. 530 ppm waren somit die Bildungsgeschwindigkeit von Aceton unter Exposition gegen Vinylidenfluorid und die Metabolisierungsrate für Aceton gleich.

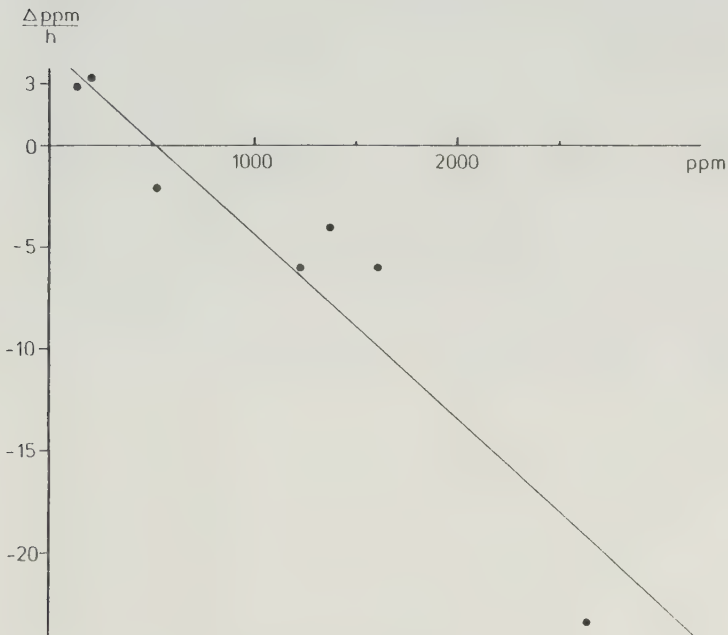


Abb. 24: Zunahme der Acetonkonzentrationen bei gleichzeitiger Exposition gegen Aceton und Vinylidenfluorid in Abhängigkeit von der mittleren Acetonkonzentration in der Luft (siehe Text).

An Hand der in Abb. 12 dargestellten Kurve konnte die Metabolisierungsgeschwindigkeit für Aceton bei 530 ppm abgelesen werden; sie beträgt ca. $250 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Somit ist:

$$v'_{\max}(\text{VF}_2) = \text{ca. } 250 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} .$$

$v'_{\max}(\text{VF}_2)$ = maximale Geschwindigkeit der Acetonbildung in vivo unter Einwirkung von VF_2 .

4. DISKUSSION

4.1. Versuchsanordnung, Pharmakokinetisches Modell

Zur Exposition der Versuchstiere wurde die von Bolt et al. (1976) beschriebene Methode gewählt. Mit Hilfe eines geschlossenen Expositionssystems war es möglich, den tierischen Organismus als Ganzes zu betrachten und den Gasaustausch mit der Luft zu bilanzieren. Ein weiterer Vorteil lag in der Applikation von Aceton in Dampf- bzw. Gasform. Hierdurch ließ sich eine berufliche Acetonexposition, wie von Baumann u. Angerer (1979a) beschrieben, besser simulieren als bei oraler (Price u. Rittenberg, 1950) oder parenteraler (Mourkides et al., 1959; Lindsay u. Brown, 1966; Bates et al., 1968; Bates, 1971) Applikation von Aceton, bei der zudem zusätzliche Fehlerquellen durch gastrointestinale Aufnahme, "first-pass-effect", Durchblutung des Injektionsareals, und dgl. hätten auftreten können.

Für die pharmakokinetische Analyse wurde das von Filser (1979) zum Studium der Pharmakokinetik halogenierter Äthylene angewandte Modell benutzt. Hierdurch ließen sich die Kinetik der Aufnahme, des Metabolismus und der Abatmung getrennt untersuchen. Es zeigte sich, daß der Metabolismus von Aceton sättigbar ist, wie es von Sulway u. Malins (1970) ebenfalls für den Metabolismus von Acetessigsäure und β -Hydroxybuttersäure postuliert worden war. Diese Dosisabhängigkeit des Metabolismus von Aceton ist aus Abb.12 zu entnehmen. Im Gegensatz zu den von Filser (1979) aufgezeigten Verhältnissen bei halogenierten Äthylenen (siehe Abb.25) gibt es jedoch keinen präzise definierten "Sättigungspunkt", sondern bei steigender Acetonkonzentration findet ein allmählicher Übergang von einer Kinetik erster Ordnung in ei-

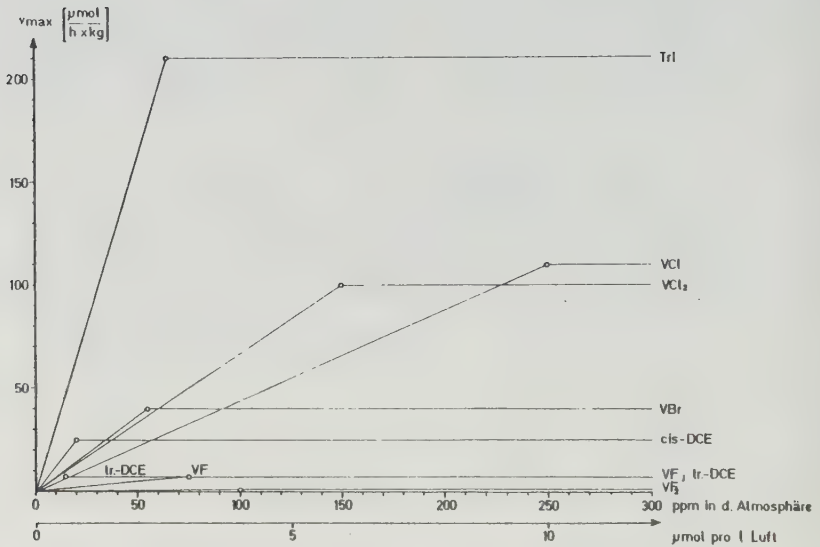


Abb. 25 (aus Filser, 1979): Geschwindigkeiten der metabolischen Eliminierung von halogenierten Äthylenen bei Wistar-Ratten, in Abhängigkeit von der Konzentration in der Atmosphäre.

Abk.: Tri=1,1,2-Trichloräthylen; VCl=Vinylchlorid; VCl₂=Vinylidenchlorid; VBr=Vinylbromid; cis-DCE=cis-1,2-Dichloräthylen; tr.-DCE=trans-1,2-Dichloräthylen; VF=Vinylfluorid; VF₂=Vinylidenfluorid.

ne Kinetik nullter Ordnung statt (Abb.11). Der Metabolismus von Aceton läßt sich, im Gegensatz zum Metabolismus der Halo-Äthylenen, sehr gut mit einer Kinetik nach Michaelis-Menten beschreiben (Abb.12 u. 13).

4.2. Aufnahme, Verteilung und Abatmung von Aceton

Wie in 3.1.1. und 3.1.3. aufgezeigt wurde, reichert sich Aceton im Organismus gegenüber der umgebenden Luft stark an. Bei den hier verwendeten Versuchstieren betrug die "Verteilungskonstante" K_{G1} , die ein Maß für diese Anreicherung ist, 220. Dieser Wert gilt für den Organismus als Ganzes; da der Körper keine homogene Masse ist, stellt er einen Mittelwert der Anreicherung von Aceton in verschiedenen Kompartimenten unterschiedlicher Größe und Zusammensetzung dar. Besonders deutlich sind eine unterschiedliche Hydrophilie und Lipophilie der Substanz (Sulway u. Malins, 1970). Zudem fanden Reichard et al. (1979) durch Untersuchungen am Menschen mit radioaktiv markiertem Aceton, daß Aceton in einem größeren Verteilungsvolumen verteilt wird als im Körperwasser allein. In der vorliegenden Arbeit konnte diese Verteilung durch Bestimmung des Ostwaldschen Verteilungskoeffizienten für Aceton zwischen Wasser und Luft und zwischen Öl und Luft bei einer physiologischen Temperatur (37°C) quantifiziert werden. Der hierbei ermittelte Verteilungskoeffizient von 350 für Aceton zwischen Wasser und Luft bei 37°C deckte sich mit früheren, mit anderer Methodik durchgeführten Arbeiten, die einen Ostwald-Koeffizienten für Aceton zwischen Wasser und Luft von 380 bei 38°C (Widmark, 1920) sowie von 334 bei 37°C (Briggs u. Shaffer, 1921) gefunden hatten. In der vorliegenden Arbeit lag das Verteilungsgleichgewicht für Aceton zwischen Blut und Luft in vitro bei 210; Widmark (1920) hatte beim Menschen in vivo eine Acetonverteilung zwischen Blut und Alveolarluft von 290 ermittelt. Der Unterschied zwischen der von Widmark für Aceton gefundenen Verteilung zwischen Urin und Alveolarluft ($K_{G1} = 415$) und dem in der vorliegenden Arbeit ermittelten Wert ($K_{G1} = 330$) läßt sich dadurch erklären, daß Widmark seine

Messung bei Zimmertemperatur durchführte und nicht bei Körpertemperatur; der Wert liegt höher als der von ihm ermittelte Ostwald-Koeffizient für Aceton zwischen Wasser und Luft. Wie sich aus Vergleichsmessungen bei verschiedenen Temperaturen ergab, sinken bei Erwärmung die Werte für K_{G1} ab. Wie Briggs u. Shaffer (1921) feststellten, herrschen in vivo die gleichen Verteilungsverhältnisse für Aceton zwischen den Körperflüssigkeiten und der Luft wie in vitro; der Austausch dieser Substanz geschieht sowohl in der Lunge als auch in der Niere durch reine Diffusion.

Die Kinetik der Gleichgewichtseinstellung (Aufnahme von Aceton in den Organismus durch Inhalation sowie Abatmung) entsprach den von Filser (1979) für die halogenierten Äthylene aufgezeigten Prinzipien. Dieser Vorgang folgt, wie aus Abb.15 ersichtlich, eindeutig einer Kinetik erster Ordnung. Die Geschwindigkeit hängt hierbei von dem Größenverhältnis zwischen Tiervolumen und umgebenden Luftraum, von der Gleichgewichtskonstante K_{G1} , sowie von einem artspezifischen Oberflächenfaktor ab. Letzteres ist bei Rückschlüssen aus Tierexperimenten auf den Menschen zu berücksichtigen. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen ferner, daß die Acetonaufnahme aus der Luft wesentlich schneller verläuft als der Metabolismus (Abb.9,Abb.10); die bei der Aufnahme bestimmenden Parameter sind für den Metabolismus also nicht limitierend.

Vergleicht man die Geschwindigkeit der Acetonabatmung in das geschlossene System nach vorausgegangener unterschiedlicher "Vorbeladung" des Organismus mit Aceton - einmal durch inhalatorische Applikation (s.Abb.17), zum anderen durch orale Gabe (s.Abb.18) - so ist festzustellen, daß in beiden Fällen die Exhalation von Aceton nach einer Kinetik 1. Ordnung erfolgt; die Geschwindigkeitskonstanten sind in beiden Fällen ähnlich. Dieses deutet darauf hin, daß die Einstellung eines Verteilungsgleichgewichts

zwischen Acetonkompartimenten innerhalb des tierischen Organismus relativ rasch erfolgt, so daß sie gegenüber der Exhalationsgeschwindigkeit nicht ins Gewicht fällt. Dieses ist nicht selbstverständlich, denn bei ausschließlich lipophilen gas- oder dampfförmigen Stoffen wird normalerweise beobachtet, daß die Exhalation durch mehrere, zeitlich gegeneinander abgesetzte, e-Funktionen beschrieben werden kann. Dieses ist besonders gut im Falle des Trichloräthylen belegt, bei dem eine Kompartimentierung in mindestens drei abgrenzbare Kompartimente nachweisbar ist, aus denen die Freisetzung des Stoffes zur Exhalation sehr verschieden schnell erfolgt (Schacke, 1972; Kimmerle u. Eben, 1973).

Für die Acetoninhalation sowie für die Abatmung gelten die gleichen kinetischen Grundsätze; beide Vorgänge stehen über das "Verteilungsgleichgewicht" K_{G1} in einem direkten Zusammenhang. Im Gegensatz zu der von Price u. Rittenberg (1950) an Hand von Untersuchungen an Ratten aufgestellten These geschieht die Elimination von Aceton aus dem Organismus hauptsächlich durch Abatmung und nicht durch den Metabolismus. Diese Diskrepanz ergibt sich daraus, daß die schon von Widmark (1920) und Briggs u. Shaffer (1921) festgestellte Anreicherung von Aceton im tierischen Gewebe bei der Untersuchung des Metabolismus durch Price u. Rittenberg (1950) nicht berücksichtigt wurde.

4.3. Biochemische Aspekte

Wie aus Abb.12 zu entnehmen ist, folgt die metabolische Elimination von Aceton einer Kinetik nach Michaelis-Menten. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Metabolisierung ist somit die Umsatzrate des Substrats Aceton. Anders sind die Verhältnisse bei der von Filser

(1979) beschriebenen metabolischen Elimination der halogenierten Äthylene (Abb.25). Hier ist ein abrupter Übergang von einer Kinetik erster Ordnung in eine Kinetik nullter Ordnung bei einer als "Sättigungspunkt" bezeichneten Konzentration zu sehen. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist unterhalb dieser Konzentration ein Vorgang, der sich durch eine Kinetik erster Ordnung beschreiben läßt. Filser (1979) führt dieses Phänomen auf physikalische Faktoren beim Transport des Substrats an das Enzym zurück; diese These wurde durch Untersuchungen von Andersen et al. (1980) bestätigt, wonach die Leberperfusion den limitierenden Faktor darstellt. Für das Aceton spielen derartige Faktoren dagegen höchstens eine sehr untergeordnete Rolle; die sowohl hydrophile als auch lipophile Natur der Substanz ermöglichen einen raschen Transport.

Frühere Untersuchungen an Ratten zeigen, daß Aceton im Organismus in Essigsäure (Borek u. Rittenberg, 1949; Price u. Rittenberg, 1950) und Ameisensäure (Sakami, 1950) umgewandelt wird. Dieses wurde von Mourkides et al. (1959) bestätigt, wobei die Autoren einen nicht näher bekannten C_3 -Körper als weiteren Metaboliten postulierten. Eine genauere Aufklärung der einzelnen Zwischenschritte des Metabolismus von Aceton wird erschwert durch die Tatsache, daß die Substanz physiologisch ist und ihre Metabolite rasch in den Intermediärstoffwechsel einfließen.

Die von Sakami (1950) nachgewiesene Bedeutung der Ameisensäure als Metabolit von Aceton wurde jüngst von Baumann u. Angerer (1979a) aufgegriffen; diese Autoren schlugen vor, die Ausscheidung an Ameisensäure als Parameter für eine berufliche Aceton-Exposition beim Menschen im Sinne des "biological monitoring" zu verwenden. Um diesen Vorschlag tierexperimentell näher zu untersuchen, wurden in der vorliegenden Arbeit Ratten einer hohen atmosphärischen Acetonkonzentration ausgesetzt

und die Ameisensäureausscheidung im Harn verfolgt. Schon kurz nach Beginn der 48-stündigen Exposition erfolgte eine konstante Ameisensäureausscheidung, deren Geschwindigkeit sich selbst 7 Tage nach Expositionsende nicht verändert hatte (Abb.20). Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Werte zeigen eine weitgehende Übereinstimmung mit denen bei Aceton-exponierten Menschen. Nach Angerer (1976) scheiden nicht-exponierte Personen im Mittel 26 mg HCOOH pro l Urin aus. Bei den im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuchen betrug die Ameisensäureausscheidung nicht gegen Aceton exponierter Tiere 140 mg pro l Urin. Die um den Faktor 5,4 höhere HCOOH -Ausscheidung der Ratten kann durch den "schnelleren" Intermediärstoffwechsel kleiner Tiere im Vergleich zum Menschen erklärt werden. In dem in 3.2. beschriebenen Versuch wurden bei der Ratte pro Expositionstag 2400 μmol Aceton metabolisiert. Die Ameisensäureausscheidung betrug 179,5 μmol HCOOH pro 24 h gegenüber 67,8 μmol HCOOH pro 24 h bei unbelasteten Tieren; die unter der Acetonexposition vermehrt ausgeschiedene Menge betrug somit 111,7 μmol HCOOH pro 24 h. Setzt man nach Sakami (1950) und Mourkides et al. (1959) ein molares Verhältnis von 1:1 zwischen metabolisiertem Aceton und gebildeter Ameisensäure voraus, so ergibt sich, daß innerhalb von 24 Stunden 4,7% des metabolisierten Acetons als Ameisensäure ausgeschieden wurden. Dieses deckt sich mit den Ergebnissen von Baumann u. Angerer (1979a), die beim Menschen fanden, daß etwa 5% der retinierten Acetonmenge in Form von Ameisensäure ausgeschieden worden war.

4.4. Die Haloäthylen-induzierte Acetonämie

Eine stark vermehrte Abatmung von Aceton unter Exposition gegen halogenierte Äthylene wurde erstmals von Filser et al. (1978) bei trans-1,2-Dichloräthylen beschrieben. Der gleiche Befund zeigte sich später bei einer Reihe weiterer Haloäthylene: Vinylchlorid, Vinylidenfluorid, cis-1,2-Dichloräthylen und Perchloräthylen (Filser u. Bolt, 1980). An Hand der in der vorliegenden Arbeit entwickelten pharmakokinetischen Daten war es möglich, die Entstehung von Aceton unter Vinylidenfluorid zu quantifizieren.

Nach Filser (1979) wird Vinylidenfluorid, wenn es in atmosphärischen Konzentrationen oberhalb von 100 ppm vorliegt, mit einem konstanten $v_{\max}$ von $1,1 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ metabolisiert. Die unter diesen Bedingungen errechnete maximale Bildungsgeschwindigkeit von Aceton beträgt nach Kap.3.3.2. etwa $250 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$. Dieses zeigt eindeutig, daß Aceton kein Metabolit des Vinylidenfluorid ist, sondern aus dem Intermediärstoffwechsel stammen muß.

Wie in Kap.3.3.2. aufgezeigt wurde, ist die maximale Geschwindigkeit der Acetonbildung bei Exposition gegen Vinylidenfluorid dann gegeben, wenn sie identisch ist mit der Metabolisierungsrate für Aceton. Unter der Bedingung, daß das "Verteilungsgleichgewicht" für Aceton zwischen Organismus und Atmosphäre eingestellt ist, liegt dieser Zustand bei 500 ppm Aceton in der Luft vor. Legt man die in Kap.3.1.1.2. ermittelte Gleichgewichtskonstante zu Grunde ($K_{G1} = 220$), so ergibt sich für die Acetonkonzentration im Tier $500 \cdot 220 = 110000$ "ppm" bzw. $110 \mu\text{l}$ gelöstes Gas pro ml Gewebsvolumen, oder $4,38 \text{ mmol}$ Aceton pro l. Aus der Acetonkonzentration läßt sich die Konzentration der Ketonkörper (Acetessigsäure, β -Hydroxybuttersäure und Aceton) im Organismus insgesamt als $15,55 \text{ mmol}$ pro l errechnen (Geigy-Tabellen 1962). Dieses

entspricht der Ketonkörperkonzentration bei unbehandeltem Diabetes mellitus der Ratte (Robinson u. Williamson, 1980).

Diese quantitativen Daten zeigen das Ausmaß der durch Vinylidenfluorid im Kohlehydrat- und Fettstoffwechsel induzierten Änderungen eindeutig auf.

4.5. Folgerungen für den Menschen

Obwohl schon frühzeitig Erkenntnisse über das Verhalten von Aceton im Organismus, insbesondere über die Verteilung in verschiedenen Körperflüssigkeiten auch beim Menschen vorlagen (Widmark, 1920; Briggs u. Shaffer, 1921), sind die Kinetik des Acetonmetabolismus sowie der Aufnahme und Abatmung der Substanz bis heute nicht näher aufgeschlüsselt worden. Zum einen lag dieses an dem Fehlen erst in jüngster Zeit entwickelter Methoden zur pharmakokinetischen Analyse, zum anderen aber an der Orientierung der sich mit dieser Substanz beschäftigenden Arbeiten. So stand hauptsächlich das physiologisch als Stoffwechselzwischenprodukt vorkommende Aceton bzw. die starke Vermehrung im Diabetes mellitus im Vordergrund, nicht dagegen Aceton als exogen zugeführte Fremdsubstanz. In Tierversuchen wurde eine Acetonämie durch künstlichen Diabetes mellitus (Lindsay u. Brown, 1966; Bates et al., 1968; Bates 1971; Kaufman u. Bergman, 1971; Bässler et al., 1972; Askew et al., 1975) oder durch Fasten (Bates et al., 1968; Bates, 1971) erzeugt und die entstehenden Metabolite von Aceton untersucht bzw. ein Vergleich mit gesunden Tieren durchgeführt. Auch die Untersuchungen beim Menschen (Sulway u. Malins, 1970; Reichard et al., 1979) konzentrieren sich auf den Diabetiker bzw. den Fastenden. Zudem liegen die untersuchten Acetonkonzentrationen im Organismus stets in ei-

nem engen (meist niedrigen) Bereich. Erst Baumann u. Angerer (1979a) schließen sich durch Untersuchungen bei beruflich Aceton-exponierten Personen an die früheren Arbeiten über Aceton als exogen zugeführte Substanz an.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten tierexperimentell ermittelt. Vergleiche mit bisherigen Arbeiten zeigen, daß die hier gefundenen Prinzipien auch auf den Menschen anwendbar sind. So waren die Verteilungsverhältnisse für Aceton bei der Ratte die gleichen wie von Widmark (1920) sowie Briggs u. Shaffer (1921) für den Menschen ermittelt. Da, wie in 3.1.3. erläutert, die Kinetik der Acetonaufnahme und der Acetonabatmung direkt von dem Verteilungsgleichgewicht abhängt, ist zu erwarten, daß diese beim Menschen ähnlich verläuft wie beim Tier. Allerdings ist hier stets der unterschiedliche, speziestypische "Oberflächenfaktor" zu berücksichtigen. Ferner zeigt die gute Übereinstimmung mit den von Baumann u. Angerer (1979a) beim Menschen ermittelten Werten, daß der Metabolismus und die resultierende Ameisensäure-Ausscheidung vergleichbar sind.

In Bezug auf die in der zuletzt genannten Arbeit beschriebene berufliche Aceton-Exposition läßt sich somit folgendes feststellen:

Bei gleichbleibender Konzentration von Aceton in der Luft des Expositionsraumes, also unter Bedingungen, wie sie bei berufsbedingter Acetonexposition vorliegen können, erfolgt die Acetonaufnahme bis zur Einstellung des Verteilungsgleichgewichts mit der Umgebung über etliche Stunden (s. Abb. 16). Entsprechend langsam verläuft die Abatmung nach Expositionsende, da ja ein unendlich großer Luftraum angenommen werden muß. Bei einer täglich erneut einsetzenden Acetonexposition ist zu erwarten, daß sich noch Aceton von der letztmaligen Exposition im Organismus befindet und es somit zu einer Kumulation

der Substanz kommt.

Die für eine Überwachung von exponierten Personen im Sinne des "biological monitoring" vorgeschlagene Verfolgung der Ameisensäureausscheidung im Harn erscheint für diesen Zweck ungeeignet. Zwar werden beim Tier wie beim Menschen 5% der an einem Tag applizierten Acetonmenge innerhalb von 24 Stunden als Ameisensäure im Harn ausgeschieden, diese Ausscheidung bleibt jedoch noch lange nach Expositionsende konstant (s. Abb.20). In den hier beschriebenen Versuchen an Ratten wurden im Verlauf von 9 Tagen 21,4% der in den ersten 48 Stunden applizierten Acetonmenge in Form von Ameisensäure im Harn ausgeschieden. Dieses deutet darauf hin, daß im Acetonmetabolismus mindestens ein weiteres Kompartiment zwischengeschaltet ist, aus dem die Ameisensäure nur in limitiertem Umfang und mit starker zeitlicher Verzögerung abgegeben wird. Von der Ameisensäureausscheidung läßt sich somit weder exakt auf die Dauer noch auf das Ausmaß der Acetonexposition schließen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Pharmakokinetik von Aceton wurde bei der Ratte untersucht. Die Versuchstiere wurden in einem geschlossenen Inhalationssystem gegenüber verschiedenen hohen Anfangskonzentrationen von Aceton in der Atmosphäre exponiert; die Konzentrationsabnahme wurde während der Versuchsdauer gaschromatographisch gemessen. Anschließend wurde eine pharmakokinetische Analyse der Meßkurven durchgeführt. Die Ausscheidung von Ameisensäure, eines Metaboliten von Aceton, wurde während der Acetonexposition sowie nach deren Ende verfolgt und die Ergebnisse pharmakokinetisch analysiert. Die Ameisensäure wurde hierbei durch Wasserdampfdestillation aus dem Harn isoliert und anschließend zu Formaldehyd reduziert. Der Formaldehyd wurde mittels einer Farbreaktion photometrisch erfaßt. Durch gaschromatographische "Overhead-Analyse" wurde in vitro das Verteilungsverhalten von Aceton zwischen verschiedenen Körperflüssigkeiten und der Atmosphäre untersucht. Als Anwendungsbeispiel für die bei der Untersuchung der Pharmakokinetik von Aceton gewonnenen Daten wurden diese zur quantitativen Analyse der Acetonbildung unter Einwirkung von Vinylidenfluorid auf den Organismus der Ratte verwendet.

Im einzelnen ergab sich folgendes Bild:

- 1) Aceton reichert sich im tierischen Organismus gegenüber der Atmosphäre stark an. Das Verhältnis zwischen der Konzentration des gasförmigen Aceton in der Ratte und in der Atmosphäre beträgt 220. Dieses "Verteilungsgleichgewicht" ist als Mittelwert der unterschiedlichen Verteilungsverhältnisse für Aceton zwischen den einzelnen Geweben und Flüssigkeiten, aus denen sich der Organismus zusammensetzt, und der Atmosphäre anzusehen. Der Ostwaldsche Verteilungskoeffizient (Konzentrationsverhältnis eines Gases

zwischen einer definierten flüssigen Phase und der darüber liegenden Gasphase) für Aceton betrug zwischen Wasser (37°C) und Luft 350, und zwischen Olivenöl (37°C) und Luft 125. Das Verteilungsverhältnis für Aceton in vitro zwischen Blut (37°C) und Luft betrug 210, und zwischen Urin (37°C) und Luft 330.

- 2) Die Aufnahme von Aceton aus der Atmosphäre in den Organismus verläuft nach einer Kinetik erster Ordnung. Unter standardisierten Bedingungen (gleichbleibende Konzentration von Aceton in der Luft von 1000 ppm und Tiervolumen von 1 l) betrug die Halbwertszeit der Acetonaufnahme durch Inhalation 14,14 h. Die Abatmung von Aceton aus dem Tier in die Atmosphäre verläuft ebenfalls nach einer Kinetik erster Ordnung. Die Geschwindigkeitskonstanten der Abatmung von Aceton nach inhalatorischer sowie nach oraler Applikation sind ähnlich; die Einstellung eines Verteilungsgleichgewichts zwischen Acetonkompartimenten innerhalb des Organismus erfolgt somit relativ rasch.
- 3) Der Metabolismus von Aceton folgt einer Kinetik nach Michaelis-Menten; bei 128 ppm Aceton in der Atmosphäre ist halbmaximale Geschwindigkeit erreicht. Die Maximalgeschwindigkeit lag bei $320 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$. Der Metabolismus verläuft wesentlich langsamer als die Verteilungsvorgänge.
- 4) Unter Acetonexposition steigt die Ausscheidung von Ameisensäure im Harn deutlich an. Diese Ausscheidung erfolgt nach einer Kinetik nullter Ordnung; auch 7 Tage nach Abbruch der Exposition hält sie noch mit unverminderter Geschwindigkeit an.
- 5) Unter Exposition gegen Vinylidenfluorid (VF_2) kommt es bei der Ratte zu einer wesentlich verstärkten Acetonproduktion. Das Aceton ist hierbei kein Metabolit des Vinylidenfluorids, sondern stammt aus dem Inter-

mediärstoffwechsel. Die maximale Bildungsgeschwindigkeit für Aceton unter Vinylidenfluorid-Exposition betrug bei der Ratte ca. $250 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$. Dieser Zustand der maximalen Acetonbildung ist bei der Ratte bei einer Vinylidenfluorid-Konzentration in der Atemluft von über 100 ppm erreicht. Hierbei kommt es zu einer Acetonkonzentration im Tierkompartiment von ca. 4,4 mmol Aceton pro l .

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Andersen, M.E., Gargas, M.L., Jones, R.A., Jenkins, L.J.:
Determination of the Kinetic Constants for Metabolism of Inhaled Toxicants In Vivo Using Gas Uptake Measurements.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 54, 100 (1980)
- Angerer, J.:
Gaschromatographische Bestimmung von Ameisensäure im Harn in Form von Kohlenmonoxid.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 14, 73 (1976)
- Askew, E.W., Dohm, G.L., Huston, R.L.:
Fatty Acid and Ketone Body Metabolism in the Rat: Response to Diet and Exercise.
J. Nutr. 105, 1422 (1975)
- Bässler, K.H., Horbach, L., Wagner, K.:
Dynamics of Ketone Body Metabolism in Diabetic Rats.
Diabetologia 8, 211 (1972)
- Bates, M.W., Krebs, H.A., Williamson, D.H.:
Turnover Rates of Ketone Bodies in Normal, Starved and Alloxan-Diabetic Rats.
Biochem. J. 110, 655 (1968)
- Bates, M.W.:
Kinetics of Ketone Body Metabolism in Fasted and Diabetic Rats.
Am. J. Physiol. 221, 4, 984 (1971)
- Baumann, K. und Angerer, J.:
Untersuchungen zur Frage der Beruflichen Lösungsmittelbelastung mit Aceton.
Verh. Dtsch. Ges. Arbeitsmed. 20, 403 (1979 a)

Baumann, K. und Angerer, J.:

Occupational Chronic Exposure to Organic Solvents.
Int. Arch. Occup. Environ. Hlth. 42, 241 (1979 b)

Bolt, H.M., Kappus, H., Buchter, A., Bolt, W.:

Disposition of 1,2-¹⁴C-Vinyl-Chloride in the Rat.
Arch. Toxicol. 35, 153 (1976)

Bolt, H.M., Filser, J.G., Laib, R.J., Ottenwälder, H.:

Binding Kinetics of Vinyl Chloride and Vinyl Bromide at Very Low Doses.
Arch. Toxicol., Suppl. 3, 129 (1980)

Borek, E. und Rittenberg, D.:

The Metabolism of Acetone by Surviving Rat Liver.
J. Biol. Chem. 179, 2, 843 (1949)

Briggs, A.P. und Shaffer, P.A.:

The Excretion of Acetone from the Lungs.
J. Biol. Chem. 48, 416 (1921)

D'Ans-Lax, E.:

Taschenbuch für Chemiker und Physiker.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 3.Aufl. (1967)

Deutsche Forschungsgemeinschaft:

Arbeitsmedizinisch-Toxikologische Begründung von
MAK-Werten.
Verlag Chemie, Weinheim, (Loseblattsammlung), (1980)

Filser, J.G., Bolt, H.M., Kimmich, K., Bencsáth, F.A.:

Exhalation of Acetone by Rats on Exposure to trans-1,2-Dichloroethylene and Related Compounds.
Toxicology Letters 2, 247 (1978)

Filser, J.G.:

Pharmakokinetik und Metabolismus halogener Äthylene.

Dissertation in der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Tübingen (1979)

Filser, J.G. und Bolt, H.M.:

Pharmacokinetics of Halogenated Ethylenes in Rats.
Arch. Toxicol. 42, 123 (1979)

Filser, J.G. und Bolt, H.M.:

Characteristics of Haloethylene-Induced Acetonemia in Rats.
Arch. Toxicol. 45, 109 (1980)

Geigy-Tabellen:

Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen. •
Hrsg.: J.R. Geigy AG, 6. Aufl. (1962)

Kaufman, C.F. und Bergman, E.N.:

Renal Glucose, Free Fatty Acid, and Ketone Body Metabolism in the Unanesthetized Sheep.
Am. J. Physiol. 221, 4, 967 (1971)

Kimmerle, G. und Eben, A.:

Metabolism, Excretion and Toxicology of Trichloroethylene after Inhalation.
Arch. Toxicol. 30, 129 (1973)

Klingmüller, V., Erdmann-Müller, G.J., Rausch-Stroomann, J.-G., Brune, G.:

Schnellbestimmung wasserdampf-flüchtiger Stoffe.
Arzneimittelforschung 5, 3, 105 (1955)

Lindsay, D.B. und Brown, R.E.:

Acetone Metabolism in Sheep.
Biochem. J. 100, 589 (1966)

Link, B.:

Metabolismus von Perchloräthylen in vivo und in vitro.

Diplomarbeit in der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Tübingen (1979)

Mourkides, G.A., Hobbs, D.C., Koeppe, R.E.:

The Metabolism of Acetone-2-C¹⁴ by Intact Rats.
J. Biol. Chem. 234, 27 (1959)

Price, T.D. und Rittenberg, D.:

The Metabolism of Acetone; Gross Aspects of Catabolism and Excretion.

J. Biol. Chem. 185,1 , 449 (1950)

Reichard, G.A.Jr., Haff, A.C., Skutches, C.L., Paul, P., Holroyde, C.P., Owen, O.E.:

Plasma Acetone Metabolism in the Fasting Human.

J. Clin. Invest. 63, 619 (1979)

Rietbrock, N. und Hinrichs, W.-D.:

Eine einfache Methode zum quantitativen Nachweis der Ameisensäure in Harn und Blut des Menschen.

Klin. Wochenschr. 42,19 , 981 (1964)

Robinson, A.M. und Williamson, D.H.:

Physiological Roles of Ketone Bodies as Substrates and Signals in Mammalian Tissues.

Physiol. Rev. 60,1 , 143 (1980)

Sakami, W.:

Formation of Formate and Labile Methyl Groups from Acetone in the Intact Rat.

J. Biol. Chem. 187,1 , 369 (1950)

Schacke, G.:

Untersuchungen zur Kinetik des Trichloräthylens
und seiner Metaboliten beim Menschen.

Verh. Dtsch. Ges. Arbeitsmed. 12, 335 (1972)

Sulway, M.J. und Malins, J.M.:

Acetone in Diabetic Ketoacidosis.

The Lancet 10, 736 (1970)

Widmark, E.M.P.:

Studies in the Acetone Concentration in Blood,
Urine and Alveolar Air.

Biochem. J. 14, 364 (1920)

Lebenslauf

Am 27. Januar 1952 wurde ich in Offenbach a.M. als ältestes von sechs Kindern der Eheleute Rudolf Hallier, Exportkaufmann, und Gudrun Hallier, geb. Braun, Industriekaufmann, geboren. Von 1954 bis 1966 lebte ich mit meiner Familie in Kobe, Japan. Dort besuchte ich von 1957 bis 1966 eine englischsprachige internationale Schule. 1966 kehrte ich nach Deutschland zurück. Von 1966 bis 1970 war ich Schüler am Gymnasium der Odenwaldschule, Ober-Hambach, wo ich im Sommer 1970 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1970/71 nahm ich das Studium der Medizin an der Universität Mainz auf. Im Frühjahr 1971 absolvierte ich das Krankenpflegepraktikum am Kreiskrankenhaus Bad Soden a.Ts. Nach dem Sommersemester 1971 legte ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung (Vorphysikum) und nach dem Sommersemester 1973 die Ärztliche Vorprüfung (Physikum) ab. Während des klinischen Studienabschnitts führte ich Famulaturen an der Med.Klinik sowie an der Gynäkol. u. Geburtsh. Klinik des Städtischen Krankenhauses Frankfurt in Frankfurt a.M.-Höchst durch. Nach dem Sommersemester 1976 legte ich die ärztliche Prüfung ab. Von Januar bis April 1977 war ich als Medizinalassistent an der Chir.Abt. des Kreiskrankenhauses Hofheim a.Ts, von Mai 1977 bis August 1977 an der Inneren Abt. des Kreiskrankenhauses Stadtoldendorf und von September 1977 bis Januar 1978 an der Med.Klinik des Krankenhauses Nordwest in Frankfurt a.M. tätig.

Im März 1978 erhielt ich die Approbation als Arzt. Von 1978 bis 1979 absolvierte ich meinen Grundwehrdienst als Truppenarzt eines Bataillons.

Seit Oktober 1979 arbeite ich an meiner Dissertation mit dem Thema "Pharmakokinetik und Metabolismus von Aceton bei der Ratte" unter der Leitung von Prof.Dr.Dr.H.M.Bolt an der Abteilung für Toxikologie des Pharmakologischen Instituts der Universität Mainz.

